

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
des Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Oelkers

In Vitro und tierexperimentelle Untersuchungen zum Kombinations-
verhalten neuerer β -Laktam- und Aminoglykosid-Antibiotika

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Anneliese E. Linnhoff geb. Gehl
aus Arad

1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
des Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Oelkers

In Vitro und tierexperimentelle Untersuchungen zum Kombinations-
verhalten neuerer β -Laktam- und Aminoglykosid-Antibiotika

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Anneliese E. Linnhoff geb. Gehl
aus Arad

1. Referent: Prof. Dr. med. H. Lode
2. Referent: Prof. Dr. med. W. Christ

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12.4.1985

1	EINLEITUNG	7
1.1	Historischer Abriß	7
1.2	Entwicklung der β -Laktamantibiotika und Aminoglykoside	7
1.3	Antibiotikakombinationen. Bedeutung für die Klinik	14
2	PROBLEMSTELLUNG	19
3	MATERIAL UND METHODIK	20
3.1	Untersuchte Stämme	20
3.2	Antibiotikakombinationen	20
3.3	Reihenverdünnungstest	23
3.3.1	Prinzip der Methode	23
3.3.2	Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration im Mikrodilutionsverfahren	23
3.3.3	Minimale Hemmkonzentration der Einzelsubstanzen	25
3.3.4	Minimale Hemmkonzentration der Antibiotikakombinationen	26
3.3.5	Bakterizide Grenzkonzentration	27
3.3.6	Wirkung der Antibiotikakombinationen	27
3.3.7	Fehlerquellen	28
3.4	Bakterizidie-Kinetik	29
3.4.1	Prinzip der Methode	29
3.4.2	Untersuchte Antibiotikakombinationen im Bakterizidie-Verfahren	29
3.4.3	Durchführung	30
3.5	Methoden zur β -Laktamasebestimmung	31
3.5.1	Bestimmung der β -Laktamaseaktivität unter Verwendung von Nitrocefin	31
3.5.1.1	β -Laktamasebestimmung auf festem Nährboden	31
3.5.1.2	β -Laktamasebestimmung auf flüssigem Nährboden	32
3.5.2	Indirekte Bestimmung der β -Laktamaseproduktion anhand des Ampicillin-Hemmhofes	32

3.6	Tierexperimentelle Untersuchungen	32
3.6.1	Das "Granuloma Pouch"-Modell der Ratte	32
3.6.2	Bildung des "Granuloma Pouch"	34
3.6.3	Keiminokkulation	35
3.6.4	Behandlung mit β -Laktamantibiotika	35
3.6.5	Bestimmung der Wirksamkeit der β -Laktamantibiotika	35
4	ERGEBNISSE	37
4.1	Minimale Hemmkonzentration der Einzelsubstanzen	37
4.2	Minimale Hemmkonzentration der Antibiotikakombinationen	41
4.2.1	Kombinationen von β -Laktamantibiotika	43
4.2.2	Kombinationen von Aminoglykosiden mit Acylureido-Penicillinen	49
4.2.3	Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen	50
4.3	Ergebnisse der Bakterizidie-Kinetik	61
4.4	Ergebnisse der β -Laktamasebestimmung	66
4.5	Ergebnisse der tierexperimentellen Untersuchungen an der Granuloma Pouch	70
4.5.1	Verhalten der Keime in der Granuloma Pouch	70
4.5.2	Wirkung der β -Laktamantibiotika in der infizierten Granuloma Pouch	70
5	DISKUSSION	79
5.1	Minimale Hemmkonzentration und minimale bakterizide Konzentration der Einzelantibiotika	79
5.2	Kombinationen von β -Laktamantibiotika	82
5.3	Kombinationen von Aminoglykosiden mit Acylureido-Penicillinen	86
5.4	Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen	88
5.5	Bakterizidie-Kinetik von Kombinationen von β -Laktamantibiotika bei <i>Proteus vulgaris</i>	90

5.6	β -Laktamaseproduktion der Enterobacteriaceae und bei <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	92
5.6.1	Korrelation zwischen MHK-Werten und β -Laktamaseproduktion	93
5.6.2	β -Laktamase-Inhibitoren	95
5.7	β -Laktamantibiotikakombinationen in der Granuloma Pouch	95
5.7.1	Mikrobiologische, biochemische und histologische Charakteristika des Granuloma-Pouch-Modells	95
5.7.2	Verhalten der β -Laktamantibiotikakombinationen in infizierten Pouchen	97
6	ZUSAMMENFASSUNG	100
7	LITERATURVERZEICHNIS	102
8	ANHANG	115

Tabellen 1 - 26

1. EINLEITUNG

1.1 Historischer Abriß

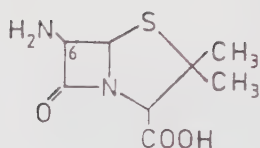
Der Begriff "Chemotherapie" wurde kurz nach der Jahrhundertwende von Paul Ehrlich geprägt (21). Paul Ehrlich definierte die antibakterielle Chemotherapie als eine monokausale, gegen den Erreger gerichtete Behandlung mit Substanzen, die eine selektive und direkte Wirkung auf die Bakterienzelle haben.

"Auf die Parasiten zu zielen, ohne daneben zu treffen" war Paul Ehrlichs Vorstellung für die Wirkungsweise der Substanzen. Ein ideales Chemotherapeutikum sollte eine maximale Affinität zum Krankheitserreger und eine minimale Affinität zu den Zellen des erkrankten Wirtes haben, waren Paul Ehrlichs Vorstellungen. Diese Anforderungen an ein Antibiotikum besitzen auch heute noch volle Gültigkeit (53).

1.2 Entwicklung der β -Laktamantibiotika und Aminoglykoside

1928 wurde erstmalig von Flemming (24) die antibakterielle Wirkung eines zufällig auf einer Bakterienkulturplatte geratenen Schimmelpilzes - *Penicillium chrysogenum* - beobachtet. Penicillin wurde als das wirksame Prinzip erkannt. Seine Grundformel wurde aufgeklärt und der β -Laktamring als hauptverantwortlich für die Störung der Bakterienzellwand-Synthese erkannt (129). Damit hatte die Antibiotika-Ära begonnen.

Die Gewinnung "biosynthetischer Penicilline" wurde erst 1948 von der Gruppe Behrens in den Laboratorien von Lilly eingeleitet. Die vollständige Synthese eines Penicillin-Moleküls gelang Sheehan und Henery-Logan (123) erstmalig 1957. Durch die Isolierung der 6-Aminopenicillansäure durch Batchelor et al. (4) 1959 war die Möglichkeit zur halbsynthetischen Herstellung von Penicillinen und β -Laktamstrukturen eröffnet:

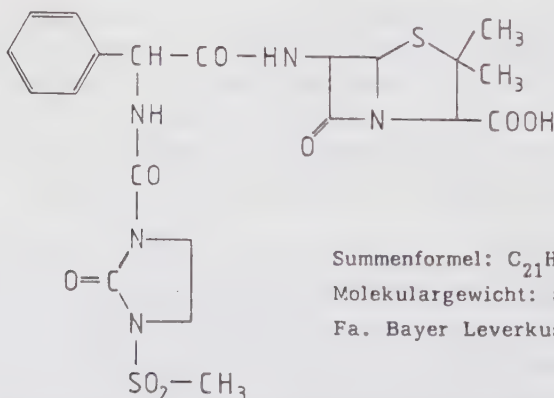


6-Aminopenicillansäure

Später folgte die Entwicklung der "Pseudomonas-wirksamen Penicilline", und zwar Ticarcillin und Carbenicillin. Damit wurde das Erregerspektrum verbreitert und eine gewisse Stabilität gegenüber Penicillinasen erreicht (129). 1977 wurden dann Mezlocillin und Azlocillin - zwei halbsynthetische Breitspektrumpenicilline - eingeführt, deren Wirkung noch stärker gegen gramnegative Erreger war und sich auf Proteus, Klebsiellen und Pseudomonas erstreckte:

MEZLOCILLIN

Strukturformel

Summenformel: $C_{21}H_{25}N_5O_8S_2$

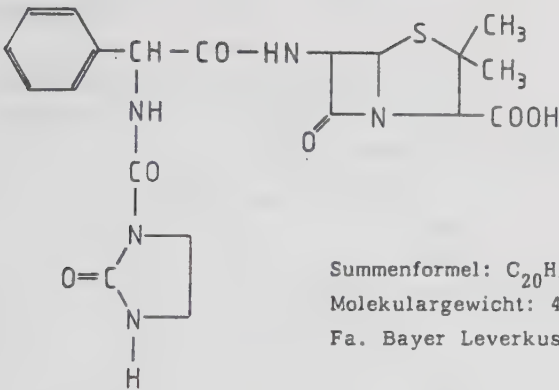
Molekulargewicht: 539,6

Fa. Bayer Leverkusen

Chem. Bezeichnung: 6-{{(R)-2-[3-(Methylsulfonyl)-2-oxo-imidazolin-1-carboxamido]-2-phenyl-acetamido}-penicillansäure

AZLOCILLIN

Strukturformel

Summenformel: $C_{20}H_{23}N_5O_6S$

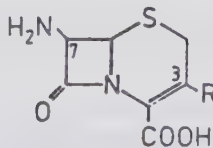
Molekulargewicht: 461,5

Fa. Bayer Leverkusen

Chem. Bezeichnung: 6-[(R)-2-(2-Oxo-imidazolidin-1-carboxamido)-2-phenyl-acetamido]-penicillansäure

Die Reihe der Aminopenicilline wurde mit Piperacillin und Apalcillin fortgesetzt.

Die Gruppe der β -Laktamantibiotika wurde 1945 durch die Entdeckung der Cephalosporine erweitert. Brotzu (9) gelang es, aus Cephalosporium acremonium diese neue Gruppe zu isolieren. Die Strukturaufklärung von Cephalosporin C erfolgte 1955 durch Abraham und Newton (1). Dieses erste Cephalosporin hatte eine relativ schwache antibakterielle Wirksamkeit. 1962 ließ sich durch die chemische Entfernung der Seitenkette des Cephalosporin C die 7-Aminocephalosporansäure herstellen:



7-Aminocephalosporansäure

Damit wurde das erste halbsynthetische Cephalosporin "Cephaloridin" isoliert (11). Es gab vielfältige Möglichkeiten, das Cephalosporin-Molekül zu substituieren oder chemisch zu verändern. Somit entstanden in der Folgezeit eine Vielzahl halbsynthetischer Cephalosporine. Die aus der 7-ACS durch Alkylierungsreaktionen gewonnenen Cephalosporin-antibiotika waren gekennzeichnet durch:

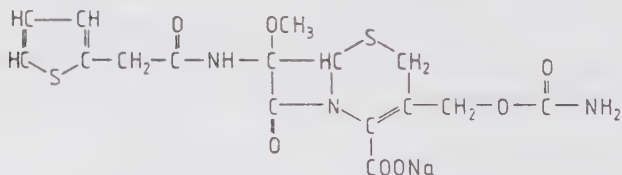
- eine verbesserte Stabilität gegenüber den β -Laktamasen verschiedener Erreger,
- eine geringe Toxizität bei penicillinähnlicher Struktur,
- ein breites Wirkungsspektrum gegen grampositive und eine Vielzahl gramnegativer Erreger.

Es wurde erkannt, daß vor allem Änderungen an den Positionen 3 und 7 von Vorteil waren. Veränderungen an der 7-Acyl-Gruppe beeinflusste überwiegend die antibakterielle Wirkung, während eine Substitution an den Positionen 3 und 4 vorwiegend die pharmakokinetischen Eigenschaften veränderten (33).

Aus der Gruppe der Cephalosporine wurden in der vorliegenden Arbeit folgende Antibiotika untersucht:

CEFOXITIN

Strukturformel



Summenformel: $C_{16}H_{16}N_3O_7S_2Na$

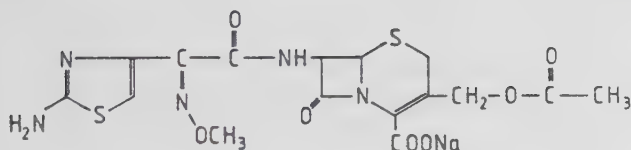
Molekulargewicht: 449,44

Fa. MSD Sharp & Dohme

Chem. Bezeichnung: Natrium(6R-cis)-3-(Hydroxymethyl)-7-methoxy-8-oxo-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-en-2-carboxylat-carbamate(Ester).

CEFOTAXIM (HR 756)

Strukturformel



Summenformel: $C_{16}H_{16}O_7N_5S_2Na$

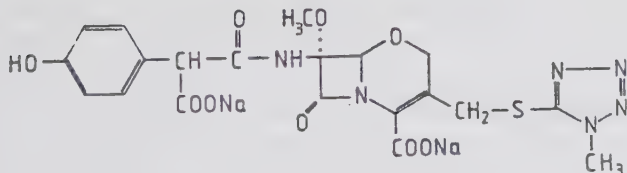
Molekulargewicht der freien Säure: 455,5

Fa. Hoechst Glaxo

Chem. Bezeichnung: Natrium-(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)glyoxyl-amido]-3-(hydroxy-methyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0.]oct-2-en-2-carbonsäure α -(0-methyl-oxim), Acetat (Ester).

MOXALACTAM

Strukturformel



Summenformel: $C_{20}H_{18}N_6O_9SNa_2$

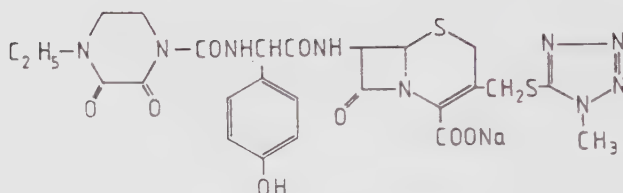
Molekulargewicht der freien Säure: 520,5

Fa. Eli Lilly GmbH

Chem. Bezeichnung: Dinatrium-(6R,7R)-7-[2-Carboxylato-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7-methoxy-3-(1-methyl-5-tetrazolyl-thiomethyl)-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo[4.2.0.]oct-2-en-2-carboxylat

CEFOPERAZON

Strukturformel



Summenformel: $C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$

Molekulargewicht: 667,7

Fa. Pfizer GmbH - Karlsruhe

Chem. Bezeichnung: (6R,7R)-7-[(R)-2-(4-Ethyl-2,3-dioxo-1-piperazincarboxamido)-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3-(1-methyl-1H-tetrazol-5-ylthiomethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0.]oct-2-en-2-carbonsäure, Natriumsalz

Das Wirkungsprinzip der Penicilline und Cephalosporine liegt im β -Laktamring. Dieser β -Laktamring ist bei den Penicillinen ein Thiazolidring und bei den Cephalosporinen ein Dehydrothiazinring. Die genaue Wirkungsweise der Penicilline ist bis heute - also mehr als 50 Jahre nach dessen Entdeckung - nicht genau geklärt. Es ist bekannt, daß sie den letzten Schritt der Zellwandsynthese beeinflussen, indem sie die Transpeptidierungsreaktionen während der Quervernetzung polymerer Glykopeptide, die bei der Zellwandsynthese von Bakterien eine wichtige Rolle spielen, hemmen. Es wird jedoch angenommen, daß β -Laktamantibiotika noch weitere "Angriffsziele" haben (133). Ihre Wirkungsweise wurde auch durch penicillinbindende Proteine versucht zu erklären (5, 135). Dabei handelt es sich um integrale Membranproteine der Zytoplasmamembran der Bakterien mit selektiver Affinität für die Bindung von β -Laktamantibiotika.

Waksman und Woodruff gelang es 1942 durch die Isolierung des Streptothricins aus den Kulturansätzen von Mikroorganismen bei bestimmten Streptomyces- und Micromonospora-Arten (142) eine neue Reihe von Antibiotika zu finden. Diese Gruppe von Antibiotika zeigte untereinander weitgehende Gemeinsamkeiten sowohl hinsichtlich ihres antibakteriellen

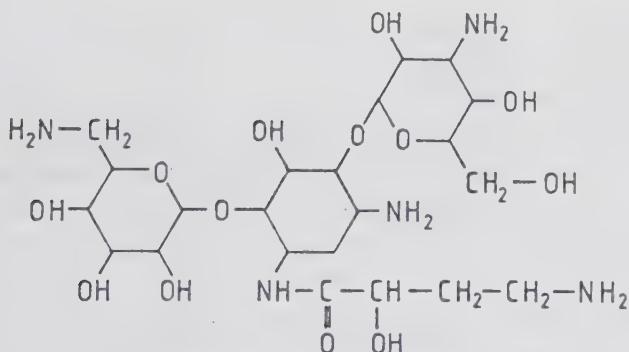
Spektrums als auch im pharmakologischen Verhalten. Es war die Gruppe der Aminoglykosid-Antibiotika. Chemisch handelte es sich um basische Oligosaccharide. Abkömmlinge von Streptomyces-Arten waren Kanamycin, Neomycin, Streptomycin, Tobramycin. Abkömmlinge der Monospora-Arten waren Gentamicin, Sisomicin, Amikacin, Netilmicin.

Außer *Staphylococcus aureus* fielen grampositive Erreger nicht in das Wirkungsspektrum der Aminoglykoside. Das Indikationsgebiet umfaßte hauptsächlich gramnegative Stäbchen, insbesondere Enterobacteriaceae sowie *Pseudomonas aeruginosa* (53).

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei halbsynthetische Aminoglykoside - Amikacin, ein Derivat des Kanamycins, und Netilmicin, ein Derivat des Sisomicins - untersucht:

AMIKACIN

Strukturformel



Summenformel:

$\text{C}_{22}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_{13}$

Molekulargewicht:

585,7

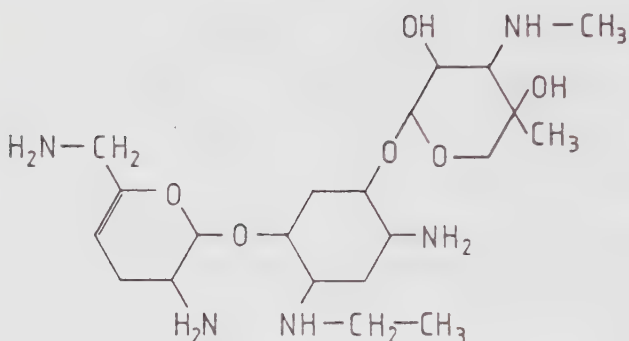
Chem. Bezeichnung:

0-3-Amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl-
(1 $\rightarrow$ 4)-0-[6-amino-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl-
(1 $\rightarrow$ 6)]-N⁵-(4-amino-L-2-hydroxy-buteryl)-
-2-deoxy-L-streptamin-bis-(hydrogensulfat)

Fa. Grünenthal Bristol

NETILMICIN

Strukturformel



Summenformel: $C_{21}H_{41}N_5O_7$

Molekulargewicht: 475,6

Fa. Byk - Essex GmbH München

Chem. Bezeichnung: { 0-[2,6-Diamino-2,3,4,6,-tetra-desoxy-K-D-glycero-4-hexenopyranosyl-(1→4)]-0-3-desoxy-4-C-methy-3-methylamino-β-L-arabino-pyranosyl-(1→6)-2-desoxy-N¹-ethyl-D-streptamin} -pentasulfat

1.3 Antibiotikakombinationen. Bedeutung für die Klinik

Seit der Einführung der antibiotischen Therapie wurden in der Behandlung bakterieller Infektionen große Erfolge erzielt. Allerdings kann ein irrationaler, ungezielter Einsatz von Chemotherapeutika zu massiven ökologischen Veränderungen der saprophytären menschlichen Keimflora und zur Züchtung resistenter Stämme führen. Die Vorstellung von einer "therapia sterilisans permagna" wurde vom Problem des Hospitalismus gestoppt (70).

Auch in der Therapie mit antimikrobiellen Substanzen gilt das uralte ärztliche Grundpostulat, daß eine Therapie dann indiziert ist, wenn

die Wahrscheinlichkeit des therapeutischen Nutzens größer ist als das Risiko der unbehandelten Krankheiten einerseits und der Nebenwirkungen der Therapie andererseits (74). Eine adäquate Chemotherapie fordert, daß am Infektionsort eine antimikrobiell wirksame Antibiotikakonzentration über einen ausreichend langen Zeitraum aufrecht erhalten wird, um die Erreger so weit zu reduzieren oder deren Vermehrung zu stoppen, damit die körpereigene Abwehr diese beseitigen kann (75).

Die minimale Hemmkonzentration ist der am häufigsten gebrauchte Parameter, der als Grundlage für die Chemotherapie dient (147). Es ist allerdings durchaus zweifelhaft, ob allein durch das Erreichen der minimalen Hemmkonzentration am Wirkungsort der maximale Effekt einer Chemotherapie erreicht wird. Der Effekt eines Antibiotikums auf Bakterien ist konzentrationsabhängig. Allgemein kann behauptet werden, daß es zu einem schnelleren Wirkungseintritt bzw. zu einer schnelleren Bakterizidie und somit zu einer besseren Keimelimination durch die Erhöhung der lokalen Spiegel oder infolge eines Kombinationseffektes kommt (134).

Bald nach der Einführung der Antibiotika wurden die ersten Antibiotikakombinationen angewendet. Mit in vitro-Methoden konnte gezeigt werden, daß eine Antibiotikakombination gewisse Mikroorganismen nicht so rasch resistent werden ließ, wie eine Behandlung mit nur einem einzelnen Antibiotikum (56). 1958 gab es bereits 16 verschiedene feste Kombinationen von Antibiotika. Es wurde aber bis heute keine Kombination gefunden, die eindeutig eine Resistenz verhindern konnte. Antibiotikakombinationen werden heutzutage überwiegend in der Anfangsbehandlung lebensbedrohlicher Infektionen mit unbekannten Erregern verwendet. Eine weitere Indikation sind Mischinfektionen, die nicht durch eine Monosubstanz behandelt werden können, Infektionen bei Neutropenikern ohne Erregernachweis, bei bakterieller Endokarditis, bei systemischen Pseudomonas-Infektionen (78).

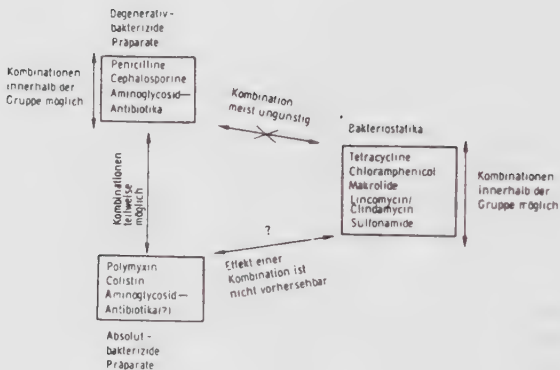


Abb. 1: Möglichkeiten der Kombinierbarkeit von Chemotherapeutika (142)

Oftmals werden Antibiotikakombinationen als empirische Initialtherapie bei Notfallsituationen eingesetzt. Nicht zu vergessen sind die Langzeittherapien von Antibiotikakombinationen bei der Tuberkulose. Eine Kombinationstherapie kann bei Mischinfektionen, bei extra- und intra-zellulär gelagerten Keimen sowie bei Herden verschiedener Lokalisation notwendig sein.

Bei der Anwendung von Antibiotikakombinationen kann es zu folgenden Kombinationseffekten kommen: Synergismus, additive Wirkung, indifferente Wirkung und Antagonismus. Die Vorteile der Anwendung von Antibiotikakombinationen bestehen in der Erweiterung des Wirkungsspektrums, in der Verzögerung der Resistenzentwicklung. Es kann zu einem Synergismus infolge verbesserter Zellpenetration oder infolge der Hemmung inaktivierender Enzyme sowie infolge des Angriffs an zwei verschiedenen Stellen der metabolischen Kette (z.B. Sequentialblockade der Folsäuresynthese, Co-Trimoxazol) kommen. Außerdem besteht die Möglichkeit des Auftretens eines Probenecid-Effektes (63).

Die Anwendung von Antibiotikakombinationen birgt aber auch eine Reihe von Gefahren und Nachteilen in sich. Es besteht die Gefahr der

vermehrten Resistenzbildung und Sensibilisierung. Superinfektionen mit Problemkeimen können auftreten. Nicht zu vernachlässigen ist das erhöhte Risiko von Nebenwirkungen sowie die additive Toxizität. Die bakteriologische Diagnostik kann erschwert werden.

Allgemeine Richtlinien über die Kombinationstherapie mit Chemotherapeutika gab die Paul-Ehrlich-Gesellschaft (76) im März 1981. Danach führt die Kombination von β -Laktamantibiotika, d.h. Penicilline und Cephalosporine, untereinander in der Regel nur zu einer Erweiterung des Wirkungsspektrums. Dagegen führt die Kombination von β -Laktamantibiotika mit Aminoglykosiden häufig zu einer synergistischen Wirkungssteigerung. Eine weitere Indikation für die Kombination von Aminoglykosiden mit Clindamycin bzw. Nitroimidazole werden für aerob-anaerobe Mischinfektionen gegeben.

Indikationen für eine Kombinationstherapie von β -Laktamantibiotika und Aminoglykoside sind laut den Empfehlungen der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (78) folgende (Auszug):

1. Anfangsbehandlung von lebensbedrohlichen Infektionen mit unbekannten Erregern
2. Mischinfektionen
3. Infektionen bei Neutropenikern und bei Patienten mit Immundefizienz ohne Erregernachweis
4. Bei bakterieller Endokarditis (nach spezieller in-vitro-Testung)
5. Systemische Pseudomonas-Infektionen.

Die Forderungen nach einer gezielten antibiotischen Behandlung sind berechtigt, aber sie finden ihre Grenzen dort, wo eine sofortige Therapie notwendig ist. Ein kultureller Untersuchungsbefund braucht zumindest einen Tag, für das Antibiotogramm wird ein weiterer Tag benötigt. Eine bakteriologische Diagnostik sollte vor Beginn der Therapie immer erfolgen (121). Materialentnahme und dessen sofortiger Transport in das bakteriologische Labor ist unerlässlich.

Die schwierigste Phase der Antibiotikatherapie ist die klinisch indizierte Initialtherapie noch bevor ein Erregernachweis und ein Antibiotogramm vorliegen (65, 66). Diese "kalkulierte" Therapie (Initialtherapie) muß sich an der Erregerhäufigkeit bei dem jeweils vorliegenden Krankheitsbild, an der Resistenzsituation, am vermutlichen Zustand der körpereigenen Abwehr sowie an den möglichen Nebenwirkungen orientieren.

Der Einsatz von Antibiotikakombinationen unter solchen Bedingungen ist oft unumgänglich. Eine "kalkulierte", kombinierte Therapie ist bei vitaler Indikation, bei schweren Krankheitsbildern, bei der Gefahr einer irreversiblen Gewebsschädigung durch den Erreger sowie bei der Gefahr einer Streuung vom Infektionsort indiziert.

Zusammenfassend kann zur Kombinationsbehandlung folgendes gesagt werden (75):

- Die Kombination von zwei β -Laktamantibiotika führt zu einer nützlichen Erweiterung des Erregerspektrums.
- Verschiedene Mechanismen können die Wirkung der einzelnen Antibiotika steigern.
- Jede Antibiotikakombination muß vor ihrer Empfehlung in vitro sowie in vivo geprüft werden, da die Möglichkeit einer unerwünschten Wirkung (z.B. β -Laktamaseinduktion) besteht.
- Klinische Ergebnisse mit der Kombinationsbehandlung hochwirksamer Cephalosporine mit Penicilline bei Neutropenikern müssen durch weitere klinische Studien geprüft werden.

Abschließend muß darauf hingewiesen werden, daß mit dem Fortschritt der antibakteriellen Chemotherapie es gleichermaßen auch zur Entwicklung und Ausbreitung resistenter Bakterienpopulationen gekommen ist (93). Drews et al. (20) behaupteten, daß jede antibakterielle Chemotherapie entsprechend ihrem Wesen nach Selektion und der mit ihr ausgeübte Selektionsdruck mit naturgesetzlicher Zwangsläufigkeit zur Etablierung von Mikroorganismen, die immer resistenter werden, führt.

Während man früher neue Seuchenerreger und Epidemien fürchtete, muß man heute - als Ergebnis von 35 Jahren Chemotherapie - die Verbreitung der infektiösen DNS-Moleküle fürchten, durch die bisher behandelbare Infektionen nunmehr unbehandelbar werden. Es besteht ein ständiger Wettlauf zwischen der Entwicklung neuer Antibiotika und der Entwicklung neuer Resistenzen. Bisher sind die Mikroorganismen Sieger. Es ist vorläufig nicht abzusehen, daß dieser circulus vitiosus durch neue Antibiotika zu stoppen ist. Eine Möglichkeit wären nur "neue Konzepte jenseits des konventionellen Vorstellungsrahmens", wie sie Drews formuliert hatte (20).

2. PROBLEMSTELLUNG

Eine Reihe von Studien zeigten sowohl synergistische wie auch antagonistische Wirkungen von β -Laktamantibiotikakombinationen (48, 36, 55, 59, 79, 85, 99, 145, 100). Gleichzeitig wurde über eine synergistische Wirkungssteigerung der Kombinationen von β -Laktamantibiotika mit Aminoglykosiden berichtet (85, 98, 118, 127, 149).

In dieser Arbeit sollte in vitro die Wirksamkeit der Kombinationen bestimmter β -Laktamantibiotika untereinander und deren Kombinationen mit Aminoglykosiden an randomisiert ausgewählten Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* untersucht werden. Die in vitro-Untersuchungen zum Kombinationsverhalten der Antibiotika wurden mit Hilfe des Mikrodilutionsverfahrens durchgeführt.

Außerdem wurden in vitro anhand eines *Proteus vulgaris*-Stammes die antibakterielle Aktivität der Antibiotikakombinationen bzw. der Einzelsubstanzen im zeitlichen Ablauf mit Hilfe der Bakterizidie-Kinetik bestimmt.

Zusätzlich wurde die β -Laktamaseproduktion der einzelnen Keime anhand des Nitrocefin-Verfahrens ermittelt. Damit sollte die Korrelation zwischen den MHK-Werten und der β -Laktamaseproduktion geklärt werden. Nach einer einfachen Methode zur Bestimmung der Aktivität der β -Laktamasen, die neben dem Antibiogramm regelmäßig durchgeführt werden kann, wurde gesucht.

Darüber hinaus sollte das Verhalten der Keime unter der Wirkung von β -Laktamantibiotikakombinationen auch in vivo untersucht werden. Als tierexperimentelles Modell wurde die Granuloma Pouch der Ratte verwendet. Die Granuloma Pouch kann als eine lokale, chronische Entzündung, die durch Schaffung einer Körperhöhle hervorgerufen wurde, charakterisiert werden. Inwieweit die Wirksamkeit der β -Laktamantibiotika mit der β -Laktamaseproduktion der Bakterien in vivo zusammenhängt, sollte geklärt werden.

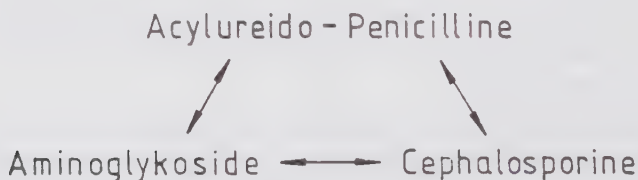
3. MATERIAL UND METHODIK

3.1 Untersuchte Stämme

Im Reihenverdünnungstest wurden 42 randomisiert ausgewählte Enterobacteriaceen und *Pseudomonas aeruginosa*, die vom Hygiene-Institut der FU Berlin geliefert wurden, untersucht. Diese stammten von Patienten des Klinikum Steglitz aus dem Jahre 1979. Die untersuchten Stämme umfaßten 10 *Klebsiella pneumoniae*, 9 *Pseudomonas aeruginosa*, 10 *Proteus vulgaris*, 9 *Proteus morganii* und 4 *Proteus rettgeri*. Als Kontrollstämme dienten: *Pseudomonas aeruginosa* Ellsworth (NCTC 10490), *Staphylococcus aureus* (SG 511), *E. coli* (ATCC 10536).

3.2 Antibiotikakombinationen

Drei Antibiotikagruppen (Acylureido-Penicilline, Cephalosporine, Aminoglykoside) wurden in folgenden Kombinationen (↔) getestet:



Es wurden verschiedene Kombinationen von β -Laktamantibiotika (Abb. 2) untersucht:

- Mezlocillin in der Kombination Cefoxitin, Cefoperazon, Cefotaxim, Moxalactam in einer konstanten Konzentration von 0,5 mcg/ml gegen 10 *Proteus vulgaris*- und 4 *Proteus rettgeri*-Stämme und in einer konstanten Konzentration von 1,0 mcg/ml gegen 9 *Proteus morganii*-Stämme.
- Azlocillin in der Kombination Cefoperazon, Cefotaxim, Moxalactam in einer konstanten Konzentration von 2,0 mcg/ml gegen 9 Pseudo-

monas aeruginosa-Stämme.

- Azlocillin in der Kombination Cefotaxim in einer konstanten Konzentration von 1,0 mcg/ml gegen 10 *Proteus vulgaris*-Stämme.

Die Kombination Aminoglykoside - Cephalosporine umfaßte achtundzwanzig verschiedene Kombinationen:

- Netilmicin in der Kombination Cefoxitin, Cefoperazon, Moxalactam in einer konstanten Konzentration von 0,125 mcg/ml gegen 10 *Klebsiella pneumoniae*-, 9 *Proteus morganii*-, 4 *Proteus rettgeri*- und 10 *Proteus vulgaris*-Stämme.

- Amikacin in der Kombination Cefoperazon, Cefotaxim, Moxalactam in einer konstanten Konzentration von 0,25 mcg/ml gegen 10 *Klebsiella pneumoniae*-, 9 *Proteus morganii*-, 4 *Proteus rettgeri*- und 4 *Proteus vulgaris*-Stämme.

Aminoglykoside wurden in 5 verschiedenen Kombinationen mit Acylureido - Penicilline untersucht:

- Netilmicin in einer konstanten Konzentration von 0,125 mcg/ml in der Kombination mit Azlocillin gegen 9 *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme und in der Kombination mit Mezlocillin gegen 9 *Proteus morganii*-, 10 *Proteus vulgaris*-, 4 *Proteus rettgeri*-Stämme.

- Amikacin in einer konstanten Konzentration von 0,25 mcg/ml in der Kombination mit Azlocillin gegen 9 *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme.

Parallel wurden die MHK-Werte von Azlocillin, Mezlocillin, Cefotaxim, Cefoperazon, Cefoxitin, Moxalactam, Amikacin und Netilmicin gegen *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris* und *Proteus morganii* untersucht. Die MHK-Werte von Azlocillin, Cefotaxim, Cefoperazon, Moxalactam, Netilmicin und Amikacin wurden gegen *Pseudomonas aeruginosa* bestimmt. Bei *Klebsiella pneumoniae* erfolgten die MHK-Bestimmungen gegen Azlocillin, Cefoxitin, Cefoperazon, Cefotaxim, Moxalactam, Netilmicin und Amikacin.

variable Antib. Konz.	Cefoxitin	Cefotaxim	Cefoperazon	Moxalactam	Azlocillin	Mezlocillin
Konst. Antib. konz.						
Netilmicin 0,125 mcg/ml	Kl.pneum.	Kl.pneum.	Kl.pneum.	Kl.pneum.	Ps.aerug.	Pr.vulg. Pr.morg. Pr.rettg.
	Pr.vulg.	Pr.vulg.	Pr.vulg.	Pr.vulg.		
	Pr.morg.	Pr.morg.	Pr.morg.	Pr.morg.		
	Pr.rettg.	Pr.rettg.	Pr.rettg.	Pr.rettg.		
Amikacin 0,25 mcg/ml		Kl.pneum.	Kl.pneum.	Kl.pneum.	Ps.aerug.	
		Pr.vulg.	Pr.vulg.	Pr.vulg.		
		Pr.morg.	Pr.morg.	Pr.morg.		
		Pr.rettg.	Pr.rettg.	Pr.rettg.		
Azlocillin 2,0 mcg/ml		Ps.aerug.	Ps.aerug.	Ps.aerug.		
Mezlocillin 0,5 mcg/ml 1,0 mcg/ml	Pr.vulg.	Pr.vulg.	Pr.vulg.	Pr.vulg.		
	Pr.rettg.	Pr.rettg.	Pr.rettg.	Pr.rettg.		
	Pr.morg.	Pr.morg.	Pr.morg.	Pr.morg.		

Abb. 2: Untersuchte Antibiotikakombinationen

3.3 Reihenverdünnungstest

3.3.1 Prinzip der Methode

Der Reihenverdünnungstest ist ein Test, anhand dessen man den Sensibilisierungsgrad einer Bakterienkultur gegenüber einem antimikrobiellen Stoff ermitteln kann (52, 64, 27). Man fertigt eine Serie von Nährbouillonchargen an und fügt von Charge zu Charge in einer geometrischen Reihe steigende Mengen des zu prüfenden Stoffes hinzu. Jede Charge wird mit der gleichen Einsaatmenge beimpft. Nach einer Bebrütungszeit, die sich nach den Wachstumseigenschaften des Stammes richtet, bei 37° C wird diejenige Konzentration an Chemotherapeutikum als Hemmdosis notiert, die das völlige Ausbleiben des mit dem freien Auge sichtbaren Wachstums bewirkt. Die minimale Hemmkonzentration (MHK) ist jene Antibiotikakonzentration, die gerade noch das Wachstum hemmt; sie ist als bakteriostatische Grenzkonzentration anzusehen und von der Höhe der Keiminokulation, der Nährbouillon und der Bebrütungs-dauer abhängig.

Die bakterizide Grenzkonzentration (MBK) wird aus den Verdünnungsreihen, die kein sichtbares Wachstum zeigen, bestimmt. Die Proben werden auf wirkstofffreien Blutplatten ausgestrichen. Nach 24 Stunden Bebrütung werden die sterilen Subkulturen als "totale Bakterizidie" (72) bewertet.

3.3.2 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration im Mikrodilutionsverfahren

Die MHK-Bestimmungen erfolgten mittels Mikrodilution in durchsichtigen Mikrotiterplatten. Jede Plastikplatte bestand aus 8 Reihen zu je 12 Kuppen (96 Kuppen). Das Fassungsvermögen einer Kuppe betrug 0,3 ml. Der flüssige Nährboden wurde mit dem Hand-Dispenser eines Ein-Kanal-Reagenzientropfers in die Kuppen der Mikrotiterplatte gefüllt. Der Ein-Kanal-Reagenzientropfer bestand aus zwei Reservoirs. Der Nährboden wurde in das untere Reservoir bis zu einer Mindesthöhe, bei der noch das Plastikrohr des oberen Reservoirs in die Flüssigkeit hineinragte, gefüllt. Ein Gummischlauch verband das untere Reservoir mit dem Hand-

Dispenser. Die Abgabemenge von 50 μ l bzw. 25 μ l war von der jeweils verwendeten Spitze des Hand-Dispensers abhängig.

Mit Hilfe des Titertek-Multidiluters (Flow Laboratories) wurde das Antibiotikum verdünnt. Die 12 Diluterköpfe wurden in den Diluterkopfträger eingepaßt. Die Diluterköpfe wurden in die Kuppen der ersten Reihe der Mikrotiterplatte getaucht. Diese vermengten den Inhalt jeder Kuppe, indem sie jeweils um 360° vor und zurück rotierten. Dieser Vorgang wurde in jeder Reihe 6 mal wiederholt. Dabei saugte jeder Diluterkopf 0,05 ml auf. Nach dem Stillstand der Diluterköpfe wurden diese aus der Mikrotiterplatte gehoben. Durch Verschieben der Mikrotiterplatte bis zur nächsten Reihe und nach erneutem Eintauchen der Diluterköpfe wurde die aufgesaugte Menge den nächsten Kuppen zugeführt. Nach jeder Verdünnungsreihe wurden die Diluterköpfe bei kleiner Flamme bis zum Erglühen erwärmt. Danach ließ man sie etwa 10-15 Minuten abkühlen. Um eine Luftkontamination zu verhindern, wurden sie mit steriler Alu-Folie abgedeckt. Die Keimsuspensionen wurden in Einwegschalen (Cooke Laboratory/Virginia) gefüllt. Das sind Plastikbehälter, die in zwölf Reservoirs unterteilt sind. Daraus wurde mit einer Zwölfkanal-Multipipette die Keimsuspension in die Mikrotiterplatten gefüllt.

Die bebrüteten Mikrotiterplatten wurden nach 18-20 h auf dem Plattenablesespiegel abgelesen. Zu diesem Zweck wurden die Mikrotiterplatten auf die obere Fläche des Plattenablesespiegels gestellt. Der sich darunter befindende Hohlspiegel reflektierte das Bild der einzelnen Kuppen und erlaubte die genaue Betrachtung einer eingetretenen bzw. nicht eingetretenen Trübung (44).

Die Sterilisation der Glas- und Metallgegenstände erfolgte zwei Stunden lang bei 200° C trockener Hitze. Die Plastikgegenstände und Gummischläuche wurden mit Äthylenoxid gassterilisiert. Bei der Gassterilisation wurde ein Überdruck von 4-6 Atmosphären bei einer relativ hohen Feuchtigkeit und 55° C erzeugt. Das Sterilisationsgas (85 % CO_2 , 15 % ÄO) wurde nach 20-40 Minuten abgesaugt, und danach wurde mit keimfreier Frischluft gespült. Die gassterilisierten Gegenstände wurden anschließend für eine Dauer von 24 h entlüftet.

3.3.3 Minimale Hemmkonzentration der Einzelsubstanzen

Die Keime wurden unter sterilen Bedingungen in 10 ml Nährboden beimpft und 18 h lang bei 37° C bebrütet. Ein Röhrchen wurde nicht beimpft und diente zur Kontrolle. Als Nährbouillon wurde von der Firma Schering gelieferte, flüssige Müller-Hinton-Bouillon (MHB) verwendet. Zusammensetzung der MHB: 1,5 g/l Stärke, 5,0 g/l Fleischinfusion, 17,5 g/l Caseinhydrolysat. Der pH der gebrauchsfertigen Bouillon bei 35° C betrug $7,4 \pm 0,2$.

Das Keimwachstum in der Übernachtskultur der untersuchten Enterobacteriaceae war 10^9 . Dieses wurde auf 10^6 verdünnt und bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt, weil sich bei Zimmertemperatur die Keime erneut vermehren. Für jede Bestimmung waren zwei Mikrotiterplatten erforderlich. In jede Kuppe wurden mit Hilfe des Ein-Kanal-Reagenzientropfers 0,05 ml MHB pipettiert.

Jedes Antibiotikum wurde in einer Konzentration von 256 mcg/ml hergestellt. In jede Kuppe der ersten Reihe der Mikrotiterplatte wurden 0,05 ml der hergestellten Antibiotikakonzentration eingefüllt. Die 0,05 ml MHB vermischt mit 0,05 ml Antibiotikum in einer Konzentration von 256 mcg/ml ergaben in der ersten Reihe eine Endkonzentration von 128 mcg/ml. Davon wurden 0,05 ml von den Diluterköpfen des Multidiluters aufgesaugt und den Kuppen der nächsten Reihe zugeführt. Das ergab in der zweiten Reihe eine Endkonzentration von 64 mcg/ml. Durch weiteres Verdünnen erhielt man eine absteigende geometrische Verdünnungsreihe mit folgenden Antibiotikakonzentrationen: 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,063, 0,031, 0,016, 0,008 mcg/ml.

In die letzte Reihe der zweiten Platte wurde kein Antibiotikum gefüllt. Diese Reihe diente zur Kontrolle.

Die vorbereiteten Keimsuspensionen mit einem Keimwachstum von 10^6 wurden in die einzelnen Reservoirs der Einwegschele gefüllt. Mit einer Zwölfkanal-Multipipette wurden in jede Kuppe 0,025 ml Keimsuspension pipettiert.

Die Mikrotiterplatten wurden mit steriler Alu-Folie abgedeckt und 18 h bei 37° C bebrütet. Die bebrüteten Platten wurden im Plattenablesespiegel betrachtet. Es galt als MHK-Wert die Kuppe, in der keine Trübung mehr zu sehen war.

Bei der MHK-Bestimmung eines Keimes liefen jeweils drei gleiche Reihen nebeneinander parallel. Davon mußten mindestens zwei Reihen das gleiche Keimwachstum aufweisen und die dritte durfte höchstens um eine Stufe abweichen. Bei Nichtzutreffen dieser Bedingungen wurde die Bestimmung wiederholt.

Parallel zu jeder Untersuchungsreihe wurden MHK-Bestimmungen der Kontrollstämmen mit gesicherten MHK-Werten durchgeführt. Außerdem erfolgten Bestimmungen der MHK-Werte für *Proteus vulgaris*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri*, *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* gegen Azlocillin und Moxalactam sowohl im Makrodilutionsverfahren als auch mit Hilfe des Mikroverfahrens.

3.3.4 Minimale Hemmkonzentration der Antibiotikakombinationen

Bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration der Antibiotikakombinationen wurde jeder Kuppe ein Antibiotikum in einer konstanten Konzentration zugrunde gelegt. Für jede Bestimmung waren zwei Mikrotiterplatten erforderlich. Mit dem Ein-Kanal-Reagenzientropfer wurden 0,025 ml der konstanten Antibiotikakonzentration in jede Kuppe der Mikrotiterplatte pipettiert. Die entsprechende Antibiotikakonzentration wurde in MHB hergestellt. Amikacin, Netilmicin, Azlocillin, Mezlocillin wurden jeweils in einer konstanten Konzentration hergestellt:

- Amikacin wurde in einer Konzentration von 1,0 mcg/ml hergestellt, um in jeder Kuppe eine Endkonzentration von 0,25 mcg/ml zu erhalten.
- Netilmicin wurde in einer Konzentration von 0,5 mcg/ml und 2,0 mcg/ml hergestellt, um eine Endkonzentration von 0,125 mcg/ml bzw. 0,5 mcg/ml zu erhalten.
- Azlocillin wurde in einer Konzentration von 8,0 mcg/ml hergestellt, um eine Endkonzentration von 2,0 mcg/ml zu erhalten.
- Mezlocillin wurde in einer Konzentration von 2,0 mcg/ml und 4,0 mcg/ml hergestellt, um eine Endkonzentration von 0,5 mcg/ml bzw. 1,0 mcg/ml zu erhalten.

Das zweite Antibiotikum wurde in absteigender Konzentration hergestellt:
512, 256, 128, 64, 32 0,031 mcg/ml.

In jede Reihe der Mikrotiterplatte wurden 0,025 ml der entsprechenden Konzentration pipetiert. Danach wurden 0,05 ml der Keimsuspension mit einem Keimwachstum von 10^6 in jede Kuppe eingefüllt. Die letzte Reihe diente zur Kontrolle. In diesen Kuppen befanden sich 0,05 ml MHB und 0,05 ml Keimsuspension. Die Mikrotiterplatten wurden steril abgedeckt und 18 h lang bei 37° C bebrütet.

3.3.5 Bakterizide Grenzkonzentration

In den bebrüteten Mikrotiterplatten wurden jene Kuppen bestimmt, die mit dem freien Auge kein sichtbares Wachstum erkennen ließen. Der Inhalt jeder dieser Kuppen wurde mit einer sterilen Öse durchgemengt und dann auf eine wirkstofffreie Blutplatte aufgetragen. Dieses erfolgte jeweils mit jeder nicht bewachsenen und der ersten schon bewachsenen Kuppe jeder Verdünnungsreihe. Auf eine Blutplatte wurden 5-6 Verdünnungsstufen aufgetragen. Nach 24 h Bebrütung bei 37° C der Blutplatten galt die Stufe als bakterizide Grenzkonzentration, bei der noch kein Keimwachstum zu verzeichnen war. Die dazu notwendigen Blutplatten wurden vom Hygiene-Institut der FU Berlin geliefert.

3.3.6 Wirkung der Antibiotikakombinationen

Die Wirkung der Antibiotikakombinationen wurde wie folgt definiert:

Synergismus

Wirkungssteigerung der Antibiotikakombinationen um mindestens vier Stufen gegenüber den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen bei 70 % der Stämme.

Partieller Synergismus

Wirkungssteigerung der Antibiotikakombinationen um mindestens zwei Stufen und höchstens vier Stufen gegenüber den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen bei 70 % der Stämme.

Indifferenz

Keine Veränderung der Wirkung der Antibiotikakombinationen oder Wirkungssteigerung bzw. Wirkungsverminderung um maximal zwei Stufen gegenüber den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen bei 70 % der Stämme.

Partieller Antagonismus

Wirkungsverminderung der Antibiotikakombinationen um mindestens zwei Stufen und höchstens vier Stufen gegenüber den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen bei 70 % der Stämme.

Antagonismus

Wirkungsverminderung der Antibiotikakombinationen um mindestens vier Stufen gegenüber den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen bei 70 % der Stämme.

Als 70 % der Stämme galten von 10 untersuchten Stämmen sieben bzw. von neun untersuchten Stämmen sechs. Diese Definitionen waren in der Pr. rettgeri-Gruppe nur bedingt anwendbar, da nur vier Stämme untersucht wurden. Die Empfindlichkeit dieser Stämme mußte im einzelnen diskutiert werden.

3.3.7 Fehlerquellen

Das Mikrodilutionsverfahren birgt eine ganze Reihe Fehlerquellen in sich, die durch Beachtung folgender Punkte ausgeschaltet werden können:

- Sorgfältige Reinigung und Trocknung der Materialien vor der Sterilisation.
- Beachtung der Auslüftzeiten nach der Gassterilisation.
- Steril arbeiten.
- Zu schnelle Tropfenabgabe aus dem Hand-Dispenser des Ein-Kanal-Reagenzientropfers. Durch zu schnelle Tropfenabgabe können zwei Tropfen unbemerkt in eine Kuppe der Mikrotiterplatte gelangen oder ein Tropfen an der oberen Kante der Kuppe haften bleiben. Dadurch gelangt zu wenig oder zu viel Flüssigkeit in die Kuppe und das geringste Abweichen der Flüssigkeitsmenge führt zu falschen Ergebnissen.
- Rußbildung beim Erglühen der Diluterköpfe. Um das zu vermeiden, muß die Flamme klein sein und zwischen Flamme und Diluterkopf ein Winkel von etwa 90° gebildet werden. Ruß kann die aufgesaugte Flüssigkeitsmenge teilweise verdrängen und bereitet Schwierigkeiten beim Ablesen der bebrüteten Platten.
- Man achte auf Kratzer und verstopfte Diluterköpfe.

- Laut Vorschrift sollen Diluterköpfe nach dem Erglühen durch kurzes Eintauchen in Aqua dest. abgekühlt werden. Dabei besteht die Gefahr, daß etwas Wasser aufgesaugt wird, welches im Diluterkopf bleibt. Damit wäre die Verdünnung ungenau, aus diesem Grunde wurden die Diluterköpfe nach dem Erglühen bis zum Abkühlen steril abgedeckt.
- Berührung der oberen Fläche der Mikrotiterplatte beim Herunterdrücken der Diluterköpfe. Dabei bleibt etwas Flüssigkeit am Kuppenrand haften. Erst nach Stillstand der Diluterköpfe dürfen diese aus der Kuppe gehoben werden.

3.4 Bakterizidie-Kinetik

3.4.1 Prinzip der Methode

Die Bakterizidie-Untersuchungen wurden mit dem Membranfilterverfahren durchgeführt (40). Die Zahl der überlebenden Bakterien wurde nach der Inkubation in einem antibiotikafreien bzw. antibiotikahaltigen Medium bestimmt (52, 64). Nach Zugabe des Antibiotikums und Bebrütung wurde in bestimmten Zeitabständen die Zahl der überlebenden Keime ermittelt. Ein bestimmtes Volumen einer Keimsuspension wurde durch einen Filter von bekannter Flächengröße und bekanntem Porendurchmesser gesaugt. Nach anschließender Bebrütung des Filters auf festem Nährboden wurden die ausgewachsenen Kolonien gezählt.

3.4.2 Untersuchte Antibiotikakombinationen im Bakterizidie-Verfahren

Mit diesem Verfahren wurden drei verschiedene Kombinationen von β -Laktamantibiotika gegen *Proteus vulgaris* 191/79 untersucht. Die verwendeten Antibiotikakonzentrationen wurden von der MHK der Einzelsubstanzen abgeleitet. Es wurde jeweils die Hälfte und das Doppelte der MHK der Einzelsubstanzen (Abb. 3) untersucht:

Antibiotikakombinationen	Konzentrationen (mcg/ml)
Mezlocillin + Cefotaxim	4,0 + 0,125 1,0 + 0,031
Mezlocillin + Cefoperazon	4,0 + 4,0 1,0 + 1,0
Azlocillin + Cefotaxim	16,0 + 0,125 4,0 + 0,031

Abb. 3: Konzentrationen der untersuchten Antibiotikakombinationen

3.4.3 Durchführung

Der Keim wurde unter sterilen Bedingungen in 5 ml flüssigem Nährboden (MHB) eingeimpft und anschließend 18 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Die bebrütete Kultur, mit einem Wachstum von 10^9 Keime/ml, wurde auf 10^6 Keime/ml wie folgt verdünnt:

4,5 ml MHB wurden mit 0,5 ml der Übernachtskultur vermengt (Verdünnung 1:10). 0,1 ml dieser Keimsuspension wurden mit 9,9 ml des Antibiotikamediums vermengt. Parallel dazu lief eine Kontrolle, der kein Antibiotikum zugesetzt wurde.

Die Keimzahl in diesem Medium wurde durch Membranfiltration bestimmt. Die Filtration erfolgte mit einem Sartorius-Filter - Porengröße 0,2 µ, Filterdurchmesser 50 mm. 1 ml der Keimsuspension wurde auf den Filter pipettiert. Anschließend wurde der Filter mit 10 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung gespült, damit die Reste des Antibiotikums nicht auf der Filteroberfläche haften bleiben. Nach der Filtration wurde der Filter mit einer sterilen Pinzette auf eine Blutplatte gelegt und 18 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Anschließend wurden die Keime gezählt. Die Zahl der koloniebildenden Einheiten wurde der Keimzahl gleichgesetzt. Die Keimzahl wurde zur Stunde 0, 1, 2, 4, 6, 24, 48 bestimmt. Das Medium wurde in der Zeit zwischen den einzelnen Bestimmungen bei 37° C bebrütet.

3.5 Methoden zur β -Laktamasebestimmung

3.5.1 Bestimmung der β -Laktamaseaktivität unter Verwendung von Nitrocefin

Die Aktivität der β -Laktamasen wurde mit der 87/312-Lösung (Nitrocefin) bestimmt. Nitrocefin ist eine chromogene Cephalosporinverbindung 87/312 und wurde von der Fa. Glaxo zur Verfügung gestellt. 0,5 mg Nitrocefin wurden in 0,1 ml DMSO (Dimethylsulphoxyd) gelöst. Bis zu 10 ml wurde neutraler Puffer (pH 7,4) dazugefügt. Dadurch wurde eine Endkonzentration des Nitrocefins von 50 $\mu\text{g/ml}$ erreicht.

Die Aktivität der β -Laktamasen der 42 randomisiert ausgewählten Enterobacteriaceae, die im Mikrodilutionsverfahren getestet wurden, wurde auf festem und flüssigem Nährboden bestimmt.

3.5.1.1 β -Laktamasebestimmung auf festem Nährboden

Die einzelnen Keime wurden auf festem DST Agar dünn ausgestrichen und über 18 h bei 37° C bebrütet. 50-100 μl der Nitrocefin-Lösung wurden dann auf die einzelnen Platten pipettiert. Die Zeit, in der die Farbe von gelb auf rot umschlug, wurde gemessen und gemäß Abb. 4 interpretiert.

Zeitintervalle des Farbwechsels	Ergebnis	β -Laktamaseaktivität
30 sec	+++	sehr hoch
30 sec - 2 min	++	hoch
2 min - 15 min	+	mäßig
15 min	0	gering

Abb. 4: β -Laktamaseaktivität

3.5.1.2 β -Laktamasebestimmung auf flüssigem Nährboden

Die Keime wurden unter sterilen Bedingungen in 5 ml Müller-Hinton-Bouillon beimpft und 6 h lang bei 37° C bebrütet. Danach wurde 1 ml der Nitrocefin-Lösung dazugefügt und erneut die Zeit, in der die Farbe von gelb auf rot umschlug, gemessen. Die Auswertung erfolgte gemäß Abb. 4.

3.5.2 Indirekte Bestimmung der β -Laktamaseproduktion anhand des Ampicillin-Hemmhofes

Ampicillin wird von β -Laktamase produzierenden Keimen inaktiviert. Anhand der Größe des Ampicillin Hemmhofes wurde indirekt auf die β -Laktamaseproduktion geschlossen. Die Keime wurden in 10 ml Nährboden (MHB) beimpft und 18 h lang bei 37° C bebrütet. Das Keimwachstum in der Übernachtskultur der Enterobacteriaceae betrug 10^9 /ml. Dieses wurde auf 10^6 verdünnt. 0,1 ml der Keimsuspension mit einem Keimwachstum von 10^6 /ml wurden auf eine wirkstofffreie Blutplatte aufgetragen, nachdem diese 3 h davor bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Die Testplättchen mit einem Gehalt von 10 μ g/ml Ampicillin (16,667 E) und einem Durchmesser von 6 mm wurden in die Mitte der Blutplatte gelegt. Anschließend erfolgte die Bebrütung der Blutplatten 18 h lang bei 37° C. Danach wurde der Hemmhof abgelesen.

3.6 Tierexperimentelle Untersuchungen

3.6.1 Das "Granuloma Pouch"-Modell der Ratte

Die in-vivo-Untersuchungen wurden mit dem "Granuloma Pouch"-Modell an Ratten durchgeführt (101, 126). Das Granuloma Pouch wurde als Modell einer lokalen, bakteriellen Infektion in einer abwehrgeschwächten, entzündeten Körperhöhle definiert (12, 13). Dieses Modell wurde erstmals von H. Selye (120) im Jahre 1952 beschrieben. Damals wurde anhand dieses Modells die antiphlogistische Wirkung der Corticoide untersucht.

Durch die subcutane Injektion von Luft zwischen den Schultern einer Ratte entstand eine kugelförmige oder ellipsoide Lufthöhle. Die darauffolgende Injektion eines Irritans führte zur Bildung einer granulomatösen Membran an der Innenseite dieser Lufthöhle (Abb. 5). In dieser Höhle bildeten sich etwa 6-7 ml Exsudat. Sieben Tage nach der Bildung des Pouch Granuloms wurde diese Höhle mit einer Keimsuspension beimpft. Das Wachstum dieser Keime wurde damit bei antibiotisch behandelten und nicht behandelten Ratten bestimmt.

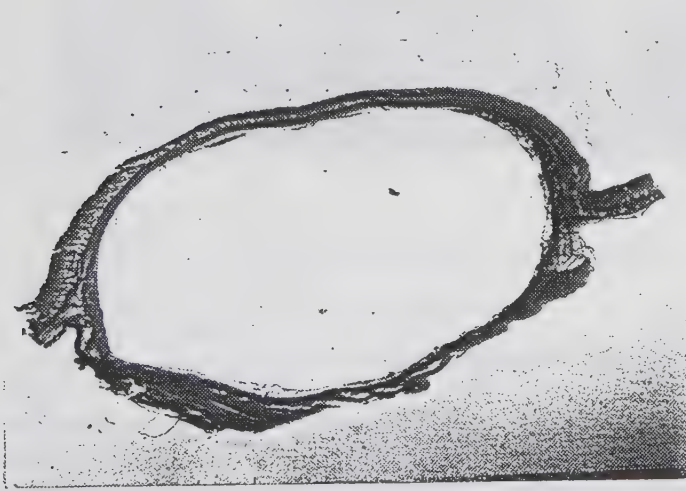


Abb. 5: Makroskopischer Querschnitt durch das Granuloma Pouch

Als bakterizide Wirkung galt die 99 %ige Abtötung der Keimzahl des Kontrollstammes.

Dieses Modell hat den Vorteil, daß vom selben Tier in verschiedenen Zeitabständen über mehrere Tage Proben entnommen werden können.



Abb. 6: Eine Ratte mit dem Granuloma Pouch

3.6.2 Bildung des "Granuloma Pouch"

Die Untersuchungen erfolgten an weiblichen Ratten aus dem Stamm Wistar mit einem Körpergewicht von 120-160 g. Die Tiere hatten freien Zugang zu geschrottener Nahrung und Wasser. Das Pouch Granulom wurde wie folgt gebildet: Die Ratten wurden vorerst mit einem Barbiturat (Nembutal^R) betäubt. 0,1 ml dieser Substanz wurde intraperitoneal gegeben. Zwischen den Schultern der Ratte wurden 20 ml Luft subcutan injiziert. Mit derselben Nadel wurden sofort 1 ml 1 %iges in Olivenöl gelöstes Crotonöl als Irritans injiziert. Die weiteren Untersuchungen an diesem Modell erfolgten 7 Tage nach der Bildung des Pouch Granuloms (Abb. 6).

3.6.3 Keiminokkulation

Es wurden vier *Proteus vulgaris*-Stämme untersucht (276/79, 191/79, 67/79, 550/79). Jeder Stamm wurde 18 Stunden lang bei 37° C in Müller-Hinton-Bouillon bebrütet. Die Kulturen wurden anschließend zentrifugiert. Das Sediment wurde mit 5 ml 0,9 %igem NaCl gewaschen. Das Keimwachstum in dieser Suspension betrug 10^8 Keime/ml. Jeder Ratte wurden 0,5 ml der Keimsuspension in das Pouch Granulom injiziert.

3.6.4 Behandlung mit β -Laktamantibiotika

Die Behandlung begann sofort nach der Keiminokkulation. Mezlocillin, Cefoperazon und Cefotaxim wurden allein und in Kombination in folgender Dosierung verabreicht:

- Mezlocillin 100 mg/kg/die
- Cefotaxim 40 mg/kg/die
- Cefoperazon 40 mg/kg/die
- Mezlocillin 100 mg/kg/die in Kombination mit Cefotaxim 40 mg/kg/die
- Mezlocillin 100 mg/kg/die in Kombination mit Cefoperazon 40 mg/kg/die
- Cefotaxim 40 mg/kg/die in Kombination mit Cefoperazon 40 mg/kg/die.

Mit jeder dieser Substanzen bzw. Kombinationen wurden 20 Ratten behandelt. Zwanzig Ratten wurden nicht behandelt und dienten als Kontrolle. Die Therapie erfolgte über 5 Tage: jeweils um 8 Uhr intravenös in die Schwanzvene der Ratte und um 15 Uhr intramuskulär.

3.6.5 Bestimmung der Wirksamkeit der β -Laktamantibiotika

Aus dem Granuloma Pouch wurden jeweils am 2., 3., 4. und 5. Tag um 8 Uhr 0,1 ml Exsudat entnommen.

Der 0,9 %igen NaCl-Lösung wurde in einer Konzentration von 0,01 % 1-(4-Nitrophenyl)-propantriol-(1,2,3) zugeführt, damit die einzelnen Kolonien besser auszählbar waren.

Die entnommenen 0,1 ml Exsudat wurden mit der oben beschriebenen NaCl-Lösung 1:10 verdünnt. Das Exsudat wurde auf 6 bis 8 Stufen verdünnt. Jede Verdünnungsstufe wurde auf DST Agar pipettiert. Der Agar wurde danach 18 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Anschließend wurden die Kolonien ausgezählt.

4. ERGEBNISSE

4.1 Minimale Hemmkonzentration der Einzelsubstanzen

Die 42 randomisiert ausgewählten Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* wurden gegen drei Gruppen von Antibiotika getestet: Acylureido-Penicilline, Cephalosporine und Aminoglykoside.

Von den ermittelten MHK-Werten gegen jedes Antibiotikum wurde jeweils der geometrische Medianwert gebildet (Tab. 1-5). Das aktivste Antibiotikum gegen *Proteus morganii* war Moxalactam (MHK=0,063 mcg/ml). Etwa gleich empfindlich war *Proteus morganii* auch gegen Netilmicin. Die MHK-Werte lagen bei 0,58 mcg/ml. Gegen Azlocillin war *Proteus morganii* nur wenig empfindlich (MHK=43,54 mcg/ml). Die weiteren MHK- bzw. MBK-Werte sind der Abb. 7 zu entnehmen.

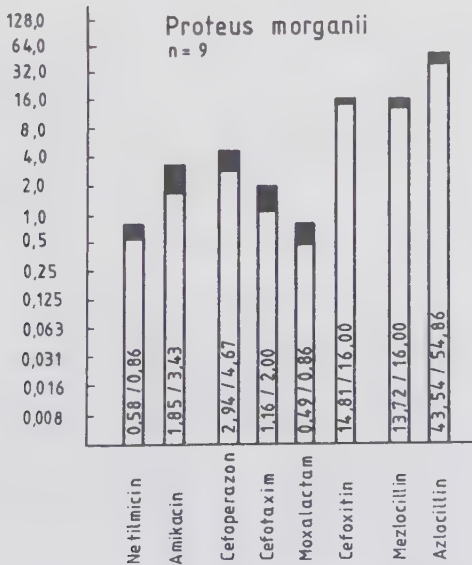


Abb. 7: Medianwerte der MHK und MBK gegen *Proteus morganii*

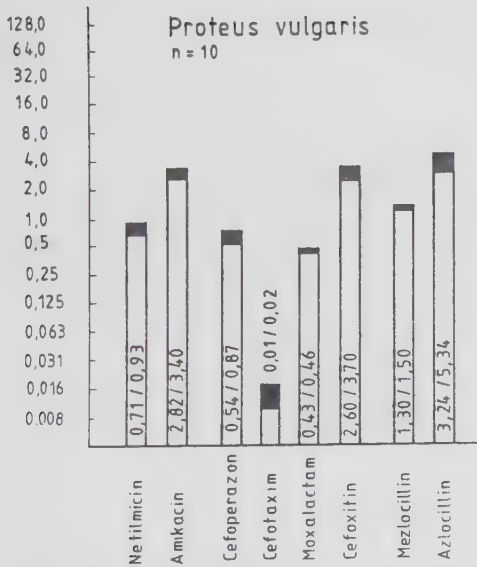
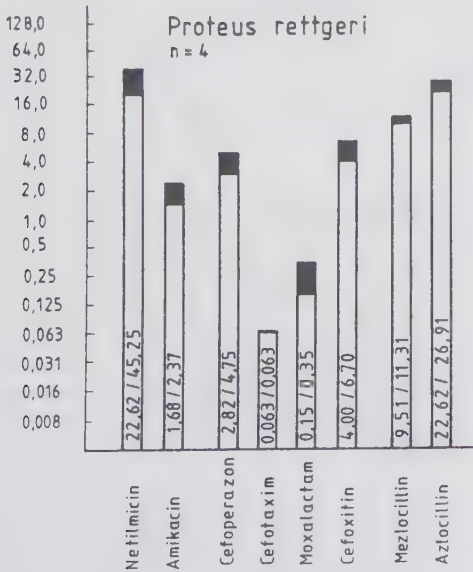
Cefotaxim war das wirksamste Antibiotikum gegen *Proteus rettgeri* (MHK=0,063 mcg/ml) und *Proteus vulgaris* (MHK=0,01 mcg/ml). Die MHK-Werte des Cefotaxim lagen beim *Proteus vulgaris* 5 Stufen niedriger im Vergleich zu den restlichen Antibiotika (Abb. 8).

Proteus vulgaris war sehr empfindlich auf Netilmicin, Cefoperazon, Cefotaxim und Moxalactam. Es wurden MHK-Werte von 0,71 mcg/ml ermittelt. Mäßige Empfindlichkeit bestand gegen Amikacin, Cefoxitin, Mezlocillin und Azlocillin.

Es wurden insgesamt nur 4 *Proteus rettgeri*-Stämme getestet. Die minimale Hemmkonzentration schwankte in den Einzelgruppen teilweise sehr stark, so daß die Medianwerte nur bedingt verwertbar sind (Abb. 9). Für Cefotaxim und Moxalactam konnten konstant MHK-Werte 0,5 mcg/ml bestimmt werden. Bei den restlichen Antibiotika kam es zu einem unterschiedlichen Verhalten von je zwei *Proteus rettgeri*-Stämmen. Dasselbe Verhalten konnte auch bei den untersuchten Antibiotikakombinationen beobachtet werden.

Amikacin war das aktivste Antibiotikum gegen *Pseudomonas aeruginosa* (MHK=1,71 mcg/ml). Ähnliche Wirkung zeigte auch Netilmicin und Cefoperazon mit MHK-Werten von 2,0 mcg/ml (Abb. 10). *Pseudomonas aeruginosa* war gegen Cefotaxim und Moxalactam resistent. Drei der insgesamt neun getesteten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme waren gegen Azlocillin resistent (MHK 32 mcg/ml). Für die restlichen Stämme konnte eine mäßige Empfindlichkeit ermittelt werden.

Die beste Wirksamkeit gegen *Klebsiella* zeigte Cefotaxim (MHK=0,12 mcg/ml). Die MHK-Werte des Netilmicin lagen mit 0,18 mcg/ml nur knapp darüber (Abb. 11). *Klebsiella pneumoniae* war außerdem sehr empfindlich gegen Moxalactam, Cefoperazon und Amikacin. Die ermittelten MHK-Werte lagen bei 0,75 mcg/ml. Die MHK-Werte der Kontrollstämmen: *Pseudomonas aeruginosa* Ellsworth NCTC 10490, *Staphylococcus aureus* haemolyticus SG 511 und *Escherichia coli* ATCC 10536 sind der Tab. 18 zu entnehmen.

Abb. 8: Medianwerte der MHK und MBK gegen *Proteus vulgaris*Abb. 9: Medianwerte der MHK und MBK gegen *Proteus rettgeri*

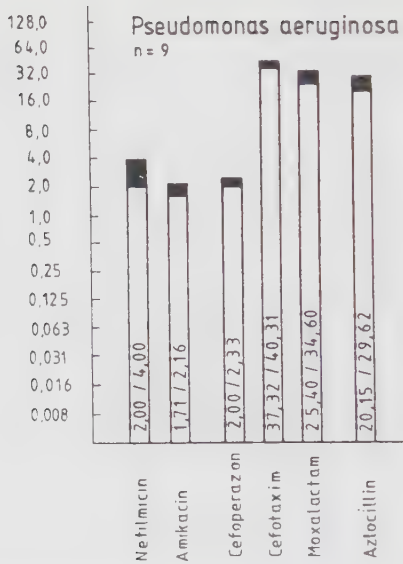


Abb. 10: Medianwerte der MHK und MBK gegen *Pseudomonas aeruginosa*

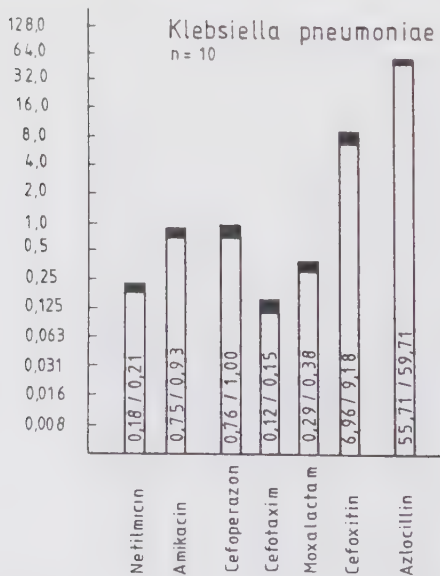


Abb. 11: Medianwerte der MHK und MBK gegen *Klebsiella pneumoniae*

4.2 Minimale Hemmkonzentration der Antibiotikakombinationen

Es wurden insgesamt drei Gruppen von Antibiotikakombinationen untersucht:

1. Kombinationen von β -Laktamantibiotika
2. Kombinationen von Aminoglykoside mit Cephalosporine
3. Kombinationen von Acylureido-Penicilline mit Aminoglykoside

Die Empfindlichkeit der untersuchten Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* für diese drei Gruppen von Antibiotikakombinationen wurde zusammenfassend in Abb. 12-16 dargestellt.

Partieller Synergismus	Indifferenz
Azlo + Ctx Amik + Azlo	Azlo + Cpz, Moxa Netil + Azlo

Abb. 12: *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (N=9) - Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Antibiotikakombinationen

Partieller Synergismus	Indifferenz
Netil + Cfx, Moxa	Amik + Ctx, Cpz, Moxa Netil + Ctx, Cpz

Abb. 13: *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* (N=10) - Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Antibiotikakombinationen

Indifferenz
Netil + Ctx, Cpz, Moxa, Cfx, Mezlo Amik + Ctx, Cpz, Moxa Mezlo + Cfx, Cpz, Moxa (Mezlo + Ctx)

Abb. 14: *PROTEUS VULGARIS* (N=10) - Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Antibiotikakombinationen

Indifferenz
Netil + Ctx, Cpz, Moxa, Cfx, Mezlo
Amik + Ctx, Cpz, Moxa
Mezlo + Ctx, Cpz, Moxa, Cfx

Abb. 15: PROTEUS MORGANII (N=9) - Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Antibiotikakombinationen

Partieller Antagonismus	Netil + Ctx
Indifferenz	Netil + Mezlo, Cpz Amik + Cpz, Moxa Mezlo + Cpz, Moxa, Cfx
Partieller Synergismus	Netil + Moxa, Cfx (Amik + Ctx) (Mezlo + Ctx)

Abb. 16: PROTEUS RETTGERI (N=4) - Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Antibiotikakombinationen

Die erzielten Ergebnisse bei der Bestimmung der MHK-Werte der Antibiotikakombinationen sind in Abb. 17-30 dargestellt. Auf einem Koordinatensystem werden auf der Koordinate die MHK-Werte der Einzelsubstanzen, die in der Antibiotikakombination in absteigender Konzentration titriert wurden, aufgetragen. Auf der Ordinate sind die MHK-Werte der jeweiligen Antibiotikakombination dargestellt.

Die Werte, die sich auf der Winkelhalbierenden des Koordinatensystems zwei Stufen höher oder niedriger abzeichneten, entsprachen einer indifferenten Wirkung der Antibiotikakombination. Bei den darüber liegenden Werten kam es zu einem Antagonismus bzw. partiellen Antagonismus. Die MHK-Werte unterhalb entsprachen einem Synergismus bzw. partiellen Synergismus.

4.2.1 Kombinationen von β -Laktamantibiotika

Die Wirkung der Kombinationen von β -Laktamantibiotika wurde an *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Proteus morganii* und *Proteus rettgeri* überprüft.

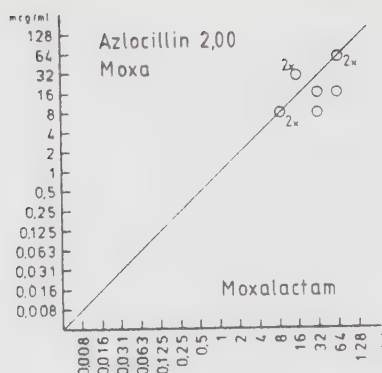
Bei *Pseudomonas aeruginosa* war in der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim ein partieller Synergismus zu verzeichnen (Abb. 17 b). Bei 70 % von den untersuchten Stämmen lagen die MHK-Werte der Kombination um zwei bis vier Stufen niedriger als die der Einzelsubstanzen (Tab. 8). In der Kombination von Azlocillin mit Moxalactam (Abb. 17 a) und von Azlocillin mit Cefoperazon (Abb. 17 c) gegen *Pseudomonas aeruginosa* lagen die MHK-Werte der Kombinationen im indifferenten Bereich.

Die Kombination von Mezlocillin mit Cefotaxim ergab bei *Proteus morganii* eine Indifferenz (Abb. 19 a). Wegen der niedrigen MHK-Werte des Cefotaxim bei *Proteus rettgeri* (Tab. 17) konnte eine Wirkungssteigerung durch die Kombination mit Mezlocillin nicht mehr gemessen werden (Abb. 20 a). Bei zwei der *Proteus rettgeri*-Stämme kam es in der Kombination zu einer Wirkungssteigerung von drei bis vier Stufen. Ein partieller Synergismus ist anzunehmen. Auch beim *Proteus vulgaris* lagen die MHK-Werte des Cefotaxim bei 80 % der untersuchten Stämme in 0,008 mcg/ml (Tab. 15). Eine Wirkungssteigerung in der Kombination war somit nicht mehr meßbar (Abb. 18 a).

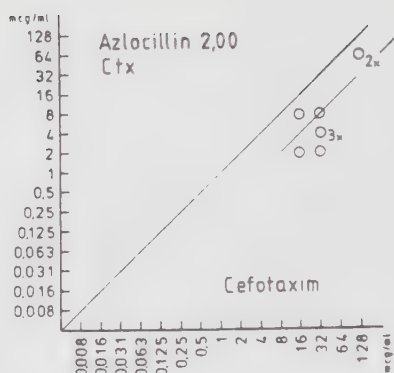
Die Kombination von Mezlocillin mit Cefoxitin zeigte bei *Proteus vulgaris* (Abb. 18 b), *Proteus morganii* (Abb. 19 b) sowie auch bei *Proteus rettgeri* (Abb. 20 b) eine durchgehende Indifferenz.

In der Kombination von Mezlocillin mit Cefoperazon war bei *Proteus vulgaris* (Abb. 18 c), *Proteus morganii* (Abb. 19 c) und *Proteus rettgeri* weder eine Wirkungssteigerung noch eine Wirkungsverminderung zu verzeichnen. Von den vier *Proteus rettgeri*-Stämmen haben sich je zwei unterschiedlich verhalten. Dieses unterschiedliche Verhalten von je zwei Stämmen konnte schon bei der Bestimmung der MHK-Werte der Einzelantibiotika beobachtet werden. In der Kombination lagen zwei der Stämme im indifferenten Bereich (Abb. 20 c), während es bei den restlichen Stämmen zu einem partiellen Antagonismus kam.

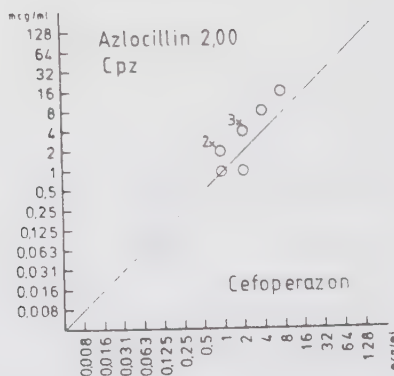
In der Kombination von Mezlocillin mit Moxalactam war bei *Proteus vulgaris* eine Indifferenz zu verzeichnen (Abb. 18 d). Die MHK-Werte



17 a



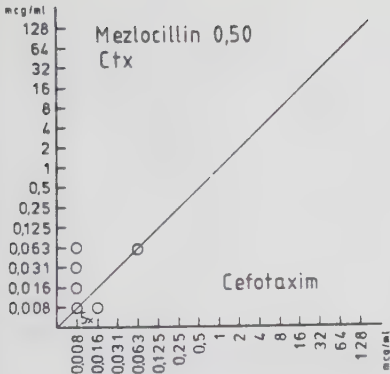
17 b



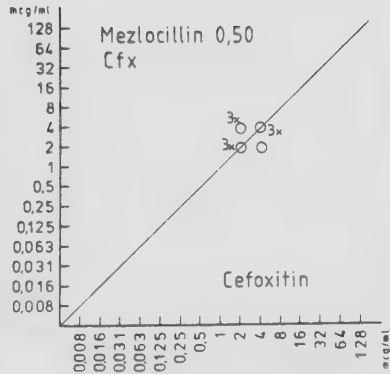
17 c

Abb. 17: *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (N=9) - Verhalten in verschiedenen Kombinationen von β -Laktamantibiotika

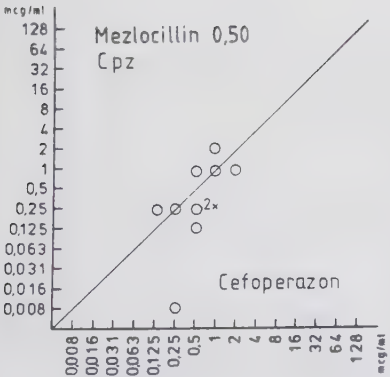
- a - Azlocillin und Moxalactam
- b - Azlocillin und Cefotaxim
- c - Azlocillin und Cefoperazon



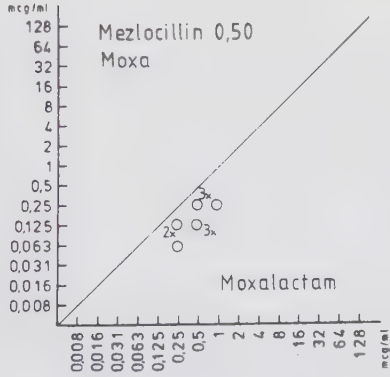
18 a



18 b



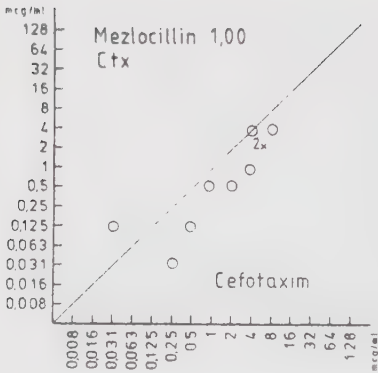
18 c



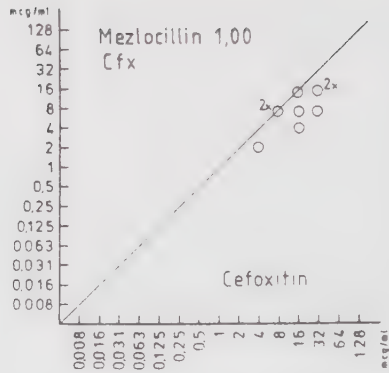
18 d

Abb. 18: *PROTEUS VULGARIS* (N=10) - Verhalten in verschiedenen Kombinationen von β -Laktamantibiotika

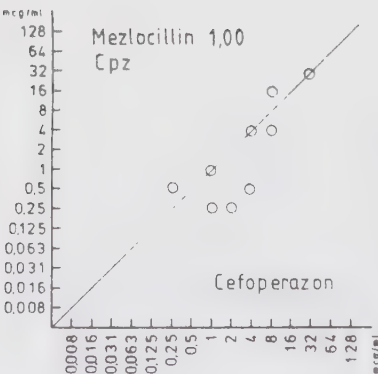
- a - Mezlocillin und Cefotaxim
- b - Mezlocillin und Cefoxitin
- c - Mezlocillin und Cefoperazon
- d - Mezlocillin und Moxalactam



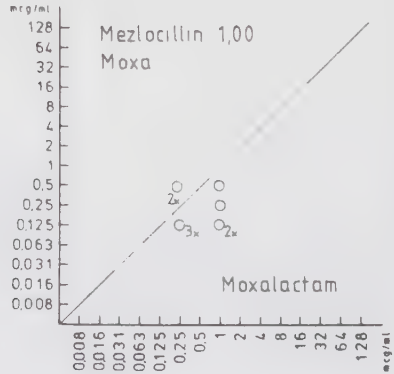
19 a



19 b



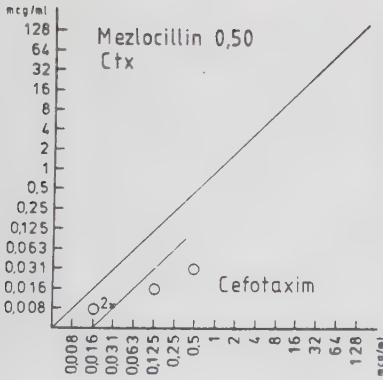
19 c



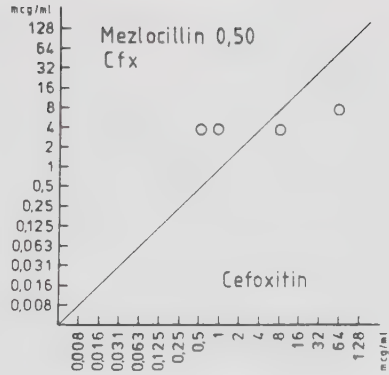
19 d

Abb. 19: *PROTEUS MORGANII* (N=9) - Verhalten in verschiedenen Kombinationen von β -Laktamantibiotika

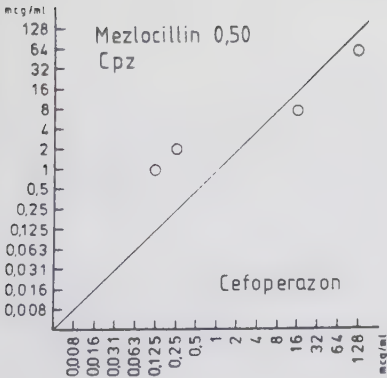
- a - Mezlocillin und Cefotaxim
- b - Mezlocillin und Cefoxitin
- c - Mezlocillin und Cefoperazon
- d - Mezlocillin und Moxalactam



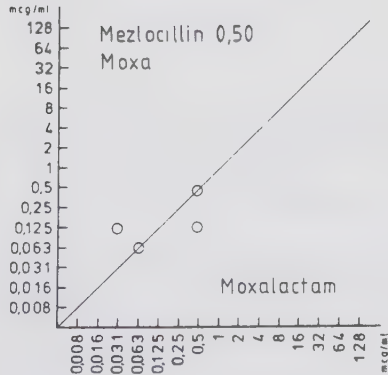
20 a



20 b



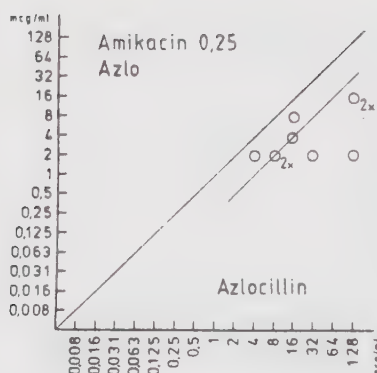
20 c



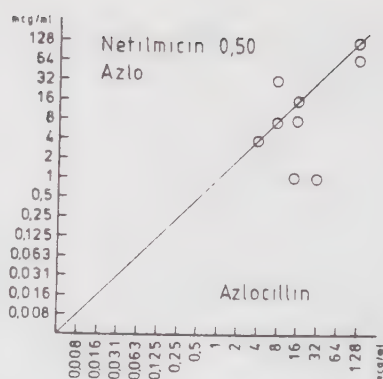
20 d

Abb. 20: PROTEUS RETTGERI (N=4) - Verhalten in verschiedenen Kombinationen von β -Laktamantibiotika

- a - Mezlocillin und Cefotaxim
- b - Mezlocillin und Cefoxitin
- c - Mezlocillin und Cefoperazon
- d - Mezlocillin und Moxalactam



21 a



21 b

Abb. 21: *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (N=9) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykoside mit Acylureido-Penicillinen

a - Amikacin und Azlocillin

b - Netilmicin und Azlocillin

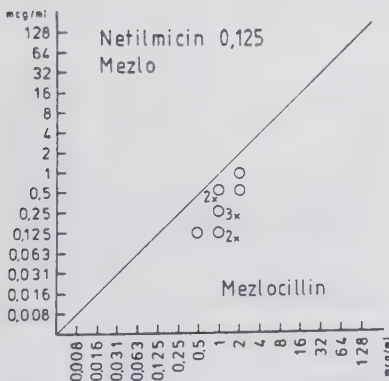
sämtlicher Stämme lagen jedoch in der Kombination konstant 1 bis 2 Stufen niedriger als die der Einzelsubstanzen. Bei *Proteus morganii* (Abb. 19 d) und *Proteus rettgeri* (Abb. 20 d) konnte in der Kombination von Mezlocillin mit Moxalactam eine Indifferenz registriert werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich in den untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika überwiegend keine Wirkungssteigerung im Vergleich zu der Wirkung der Einzelantibiotika gezeigt hatte (Tab. 13-15). Ein partieller Synergismus wurde in der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim bei *Pseudomonas aeruginosa* (Tab. 8) und Mezlocillin mit Cefotaxim bei *Proteus rettgeri* beobachtet.

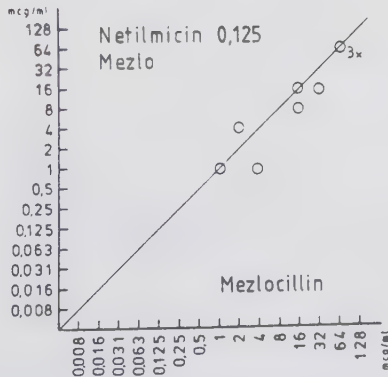
4.2.2 Kombinationen von Aminoglykoside mit Acylureido-Penicilline

Drei verschiedene Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen wurden untersucht: Netilmicin mit Mezlocillin und Azlocillin sowie Amikacin in der Kombination mit Azlocillin. Ein partieller Synergismus konnte in der Kombination von Amikacin mit Azlocillin bei *Pseudomonas aeruginosa* festgestellt werden (Tab. 8). Bei 75 % der Stämme kam es zu einer Wirkungssteigerung der Antibiotikakombination um zwei bis vier Stufen gegenüber der Einzelsubstanz (Abb. 21 a). In der Kombination Netilmicin mit Azlocillin (Abb. 21 b) konnte bei *Pseudomonas aeruginosa* nur eine Indifferenz registriert werden. Bei zwei der neun untersuchten Stämme lagen die MHK-Werte der Kombination allerdings vier bis fünf Stufen niedriger als die der Einzelantibiotika.

Die Kombination von Netilmicin mit Mezlocillin wurde bei *Proteus vulgaris* (Abb. 22 a), *Proteus morganii* (Abb. 22 b) und *Proteus rettgeri* (Abb. 22 c) untersucht. Dabei war nur eine Indifferenz zu beobachten (Tab. 9-11). Es wurden weder synergistische noch antagonistische Wirkungen gesehen.



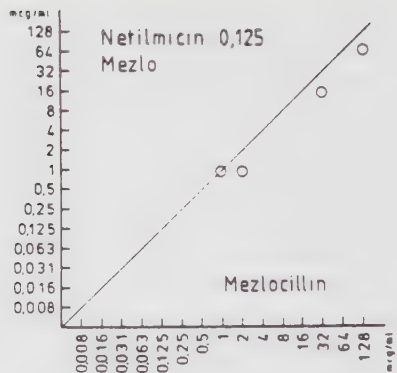
22 a



22 b

Abb. 22: Kombination von Netilmicin mit Mezlocillin bei

- a - *Proteus vulgaris* (N=10)
- b - *Proteus morganii* (N=9)
- c - *Proteus rettgeri* (N=4)



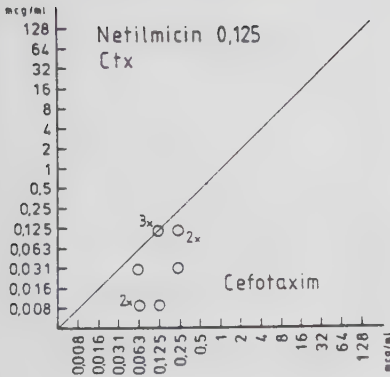
22 c

4.2.3 Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

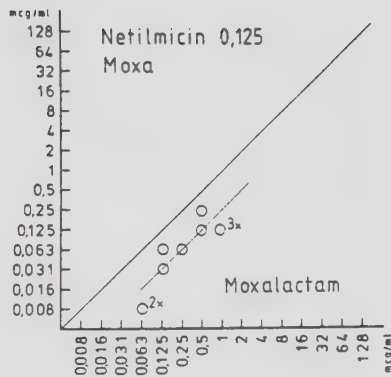
Aus der Gruppe der Aminoglykoside wurde Netilmicin und Amikacin untersucht. Diese beiden Antibiotika wurden in der Kombination mit Cefotaxim, Moxalactam, Cefoperazon und Cefoxitin an 33 Enterobacteriaceae getestet (Tab. 9-14).

Klebsiella pneumoniae zeigte in der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim in 60 % der Stämme eine Indifferenz. Bei den restlichen 40 % kam es zu einer Wirkungssteigerung von mehr als zwei Stufen gegenüber den MHK-Werten der Einzelantibiotika (Abb. 23 a). In der Kombination von Amikacin mit Cefotaxim bei *Klebsiella pneumoniae* (Abb. 24 a) waren überwiegend indifferente Effekte zu beobachten. Nur bei zwei der 10 getesteten Stämme kam es zu einem partiellen Synergismus.

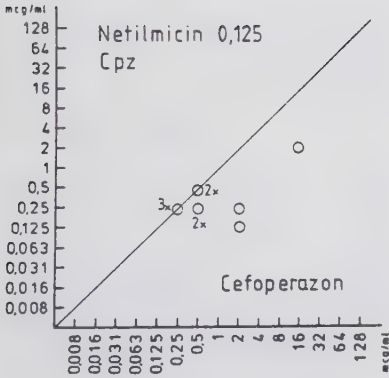
Die Kombination von Netilmicin mit Moxalactam ergab bei *Klebsiella pneumoniae* einen partiellen Synergismus (Abb. 23 b). Bei 80 % der Stämme lagen die MHK-Werte um 2 Stufen niedriger als die Ausgangswerte der Einzelsubstanzen. Indifferente Effekte konnten in der Kombination von Amikacin mit Moxalactam bei *Klebsiella pneumoniae* beobachtet werden (Abb. 24 b).



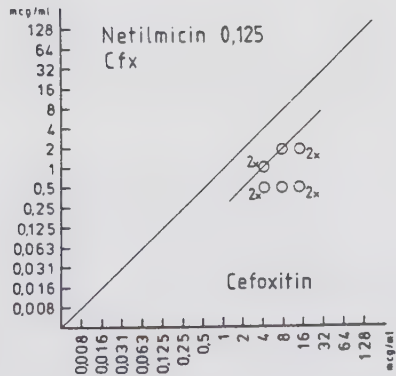
23 a



23 b



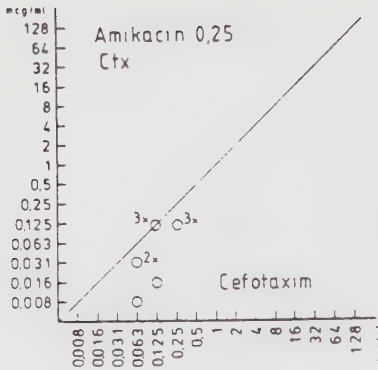
23 c



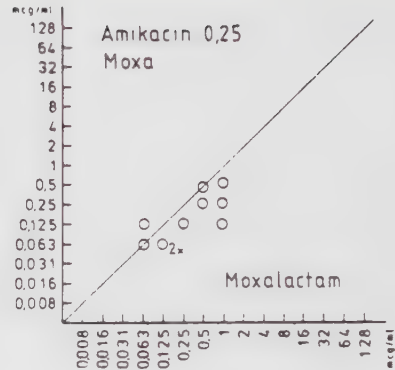
23 d

Abb. 23: KLEBSIELLA PNEUMONIAE (N=10) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

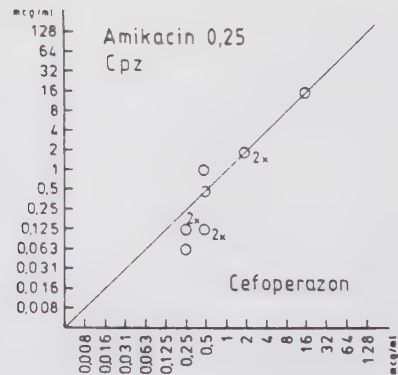
- a - Netilmicin und Cefotaxim
- b - Netilmicin und Moxalactam
- c - Netilmicin und Cefoperazon
- d - Netilmicin und Cefoxitin



24 a



24 b



24 c

Abb. 24: KLEBSIELLA PNEUMONIAE (N=10) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

- a - Amikacin und Cefotaxim
- b - Amikacin und Moxalactam
- c - Amikacin und Cefoperazon

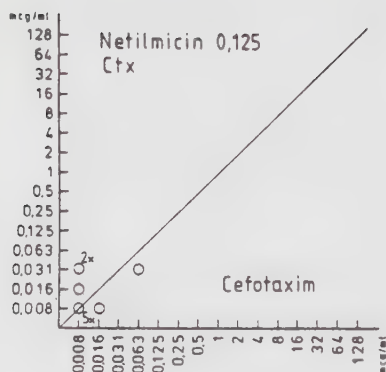
Cefoperazon in der Kombination mit Netilmicin (Abb. 23 c) bzw. Amikacin (Abb. 24 c) bei *Klebsiella pneumoniae* ergab keine Wirkungssteigerung im Vergleich zu den Ausgangswerten der Einzelsubstanzen (Tab. 6-7).

Ein partieller Synergismus wurde in der Kombination von Netilmicin mit Cefoxitin (Abb. 23 d) bei den untersuchten *Klebsiella pneumoniae*-Stämmen beobachtet. Bei 30 % der Stämme kam es zu einer Wirkungssteigerung durch die Kombination um vier und fünf Stufen gegenüber den MHK-Werten der Einzelantibiotika.

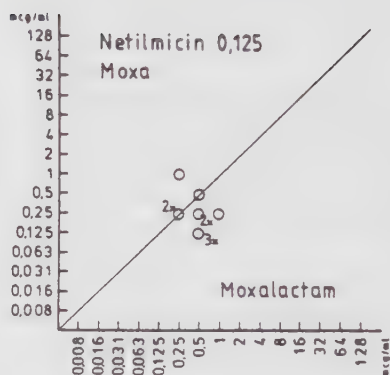
In der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim war bei *Proteus vulgaris* und *Proteus morganii* eine Indifferenz zu beobachten. *Proteus vulgaris* war gegen Cefotaxim sehr empfindlich. Die MHK-Werte des Cefotaxim lagen zu 80 % 0,008 mcg/ml. Eine weitere Wirkungssteigerung des Cefotaxim mit Netilmicin war somit gar nicht meßbar (Abb. 25 a). Bei vier der neun untersuchten *Proteus morganii*-Stämme (Abb. 27 a) lagen die MHK-Werte der Kombination um 2 bis 3 Stufen niedriger als die Ausgangswerte der Einzelsubstanzen. Zu einem partiellen Antagonismus kam es in der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim bei den untersuchten *Proteus rettgeri*-Stämmen (Abb. 29 a). Bei einem Stamm konnte sogar ein Antagonismus beobachtet werden. Bei diesem Stamm lagen die MHK-Werte der Kombination vier Stufen höher als die des Cefotaxim alleine.

Indifferente Effekte konnten in der Kombination von Amikacin mit Cefotaxim bei *Proteus vulgaris* (Abb. 26 a) und *Proteus morganii* (Abb. 28 a) beobachtet werden. Da die MHK-Werte des Cefotaxim beim *Proteus vulgaris* im sehr niedrigen Bereich lagen, war eine Wirkungssteigerung durch die Kombination nicht zu erwarten. Bei 50 % der *Proteus rettgeri*-Stämme konnte in der Kombination von Amikacin mit Cefotaxim (Abb. 30 a) ein partieller Synergismus beobachtet werden. Bei den restlichen Stämmen lagen die MHK-Werte des Cefotaxim bei 0,016 mcg/ml, so daß eine Wirkungssteigerung von mehr als einer Stufe in der Kombination mit Amikacin nicht erfaßt werden konnte. Ein partieller Synergismus ist in dieser Gruppe zu vermuten.

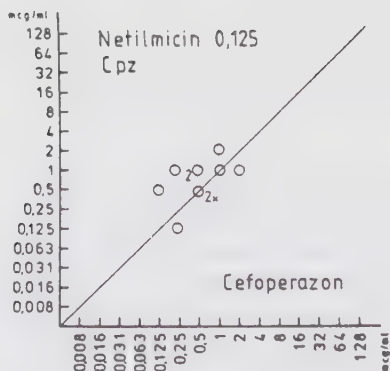
Bei *Proteus vulgaris* war in der Kombination von Netilmicin mit Moxalactam (Abb. 25 b) konstant eine indifferente Wirkung zu beobachten. In der gleichen Kombination war bei *Proteus morganii* (Abb. 27 b)



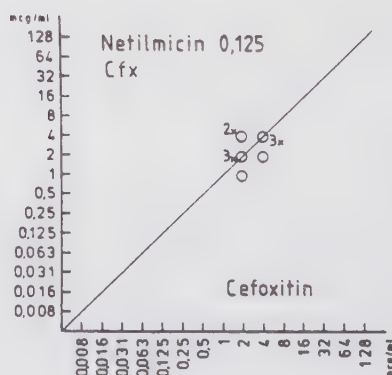
25 a



25 b



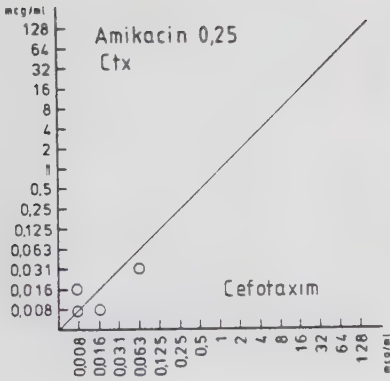
25 c



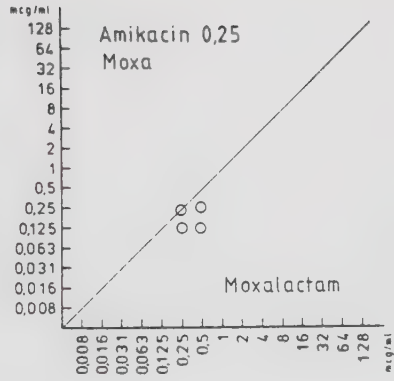
25 d

Abb. 25: *PROTEUS VULGARIS* (N=10) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

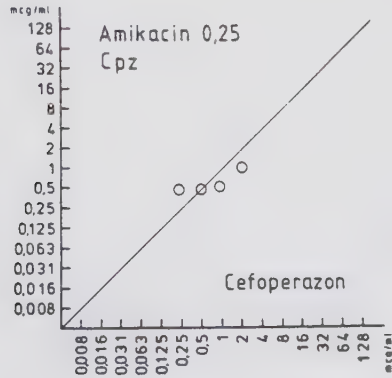
- a - Netilmicin und Cefotaxim
- b - Netilmicin und Moxalactam
- c - Netilmicin und Cefoperazon
- d - Netilmicin und Cefoxitin



26 a



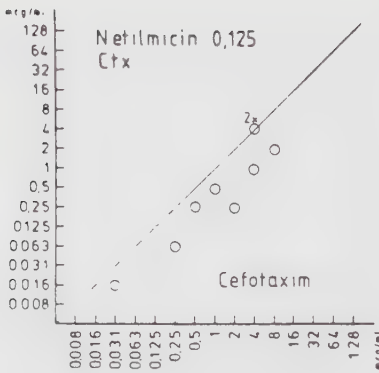
26 b



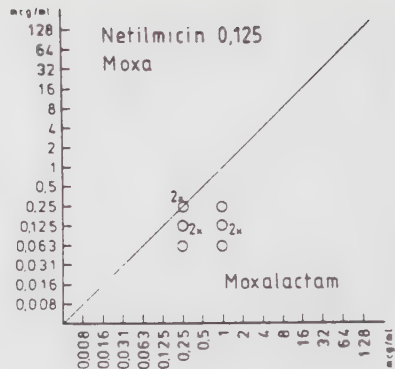
26 c

Abb. 26: *PROTEUS VULGARIS* (N=10) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

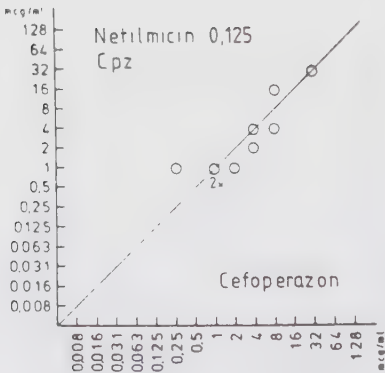
- a - Amikacin und Cefotaxim
- b - Amikacin und Moxalactam
- c - Amikacin und Cefoperazon



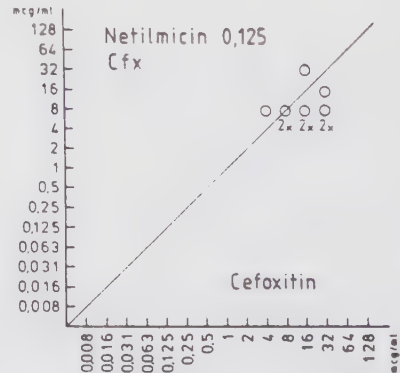
27 a



27 b



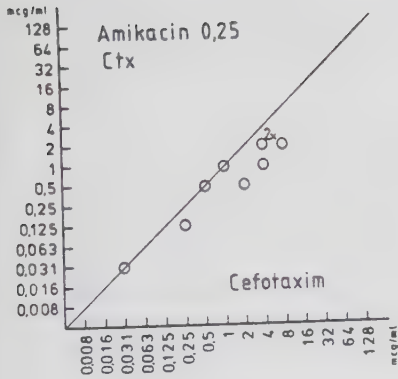
27 c



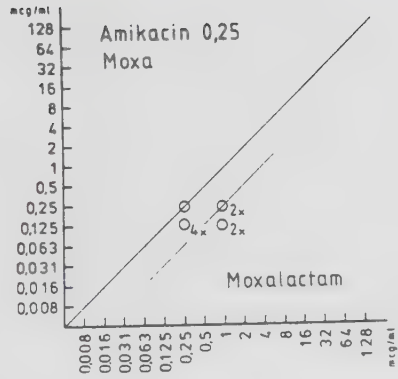
27 d

Abb. 27: *PROTEUS MORGANII* (N=9) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

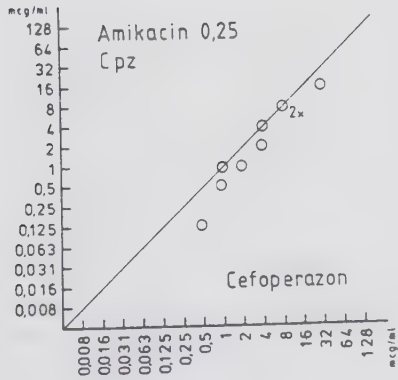
- a - Netilmicin und Cefotaxim
- b - Netilmicin und Moxalactam
- c - Netilmicin und Cefoperazon
- d - Netilmicin und Cefoxitin



28 a



28 b



28 c

Abb. 28: *PROTEUS MORGANII* (N=9) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

- a - Amikacin und Cefotaxim
- b - Amikacin und Moxalactam
- c - Amikacin und Cefoperazon

ebenfalls eine Indifferenz zu verzeichnen. Die MHK-Werte lagen jedoch bei 50 % der Stämme mindestens zwei Stufen niedriger als die Ausgangswerte der Einzelsubstanzen. Bei *Proteus rettgeri* war in der Kombination von Netilmicin mit Moxalactam bei 75 % der Stämme ein partieller Synergismus zu beobachten (Abb. 29 b).

Die Kombination von Amikacin mit Moxalactam ergab bei *Proteus vulgaris* (Abb. 26 b), *Proteus morganii* (Abb. 28 b) sowie auch bei *Proteus rettgeri* (Abb. 30 b) eine Indifferenz. Vereinzelt konnte bei *Proteus morganii* ein partieller Synergismus beobachtet werden. Bei *Proteus rettgeri* konnten die Schwankungen der MHK-Werte von je zwei Stämmen im Bereich der Einzelsubstanzen auch anhand dieser Kombination gesehen werden.

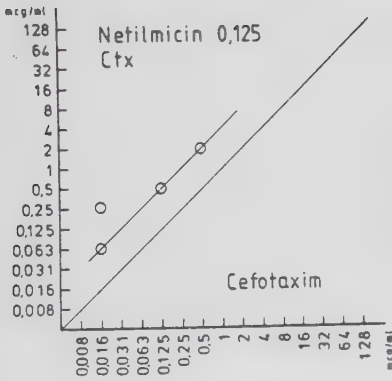
Die Kombinationen der Aminoglykoside mit Cefoperazon ergab bei den untersuchten *Proteus*-Stämmen nur indifferente Effekte. Bei *Proteus vulgaris* (Abb. 25 c) und *Proteus morganii* (Abb. 27 c) wurde konstant in der Kombination von Netilmicin mit Cefoperazon eine Indifferenz registriert. Bei *Proteus rettgeri* wurde bei 50 % der Stämme in der gleichen Kombination (Abb. 29 c) ein partieller Synergismus verzeichnet.

Proteus vulgaris (Abb. 26 c) zeigte in der Kombination von Amikacin mit Cefoperazon keine Wirkungsveränderung im Vergleich zu der Wirkung des Cefoperazon allein. In der gleichen Kombination wurde auch bei *Proteus morganii* (Abb. 28 c) und bei *Proteus rettgeri* (Abb. 30 c) konstant eine Indifferenz beobachtet.

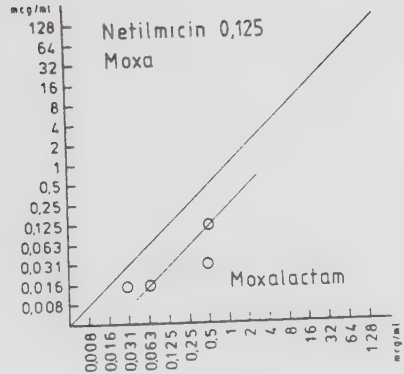
In der Kombination Netilmicin mit Cefoxitin konnte bei *Proteus vulgaris* (Abb. 25 d) und bei *Proteus morganii* (Abb. 27 d) konstant eine indifferente Wirkung bemerkt werden. Bei *Proteus rettgeri* (Abb. 29 d) konnte in der Kombination von Netilmicin und Cefoxitin bei 75 % der Stämme ein partieller Synergismus festgestellt werden.

Bei der Bestimmung der MHK-Werte der Einzelantibiotika wurde bei *Proteus rettgeri* zum Teil eine Schwankung beobachtet. Je zwei *Proteus rettgeri*-Stämme haben sich bei einigen Substanzen unterschiedlich verhalten. Dasselbe Phänomen konnte auch anhand der untersuchten Antibiotikakombinationen registriert werden.

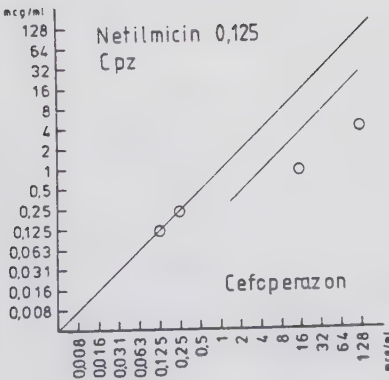
Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen überwiegend eine Indifferenz und



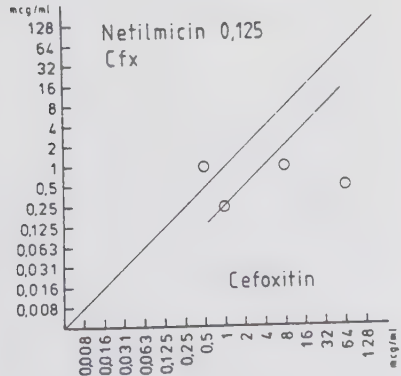
29 a



29 b



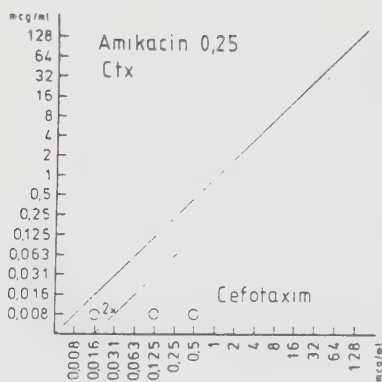
29 c



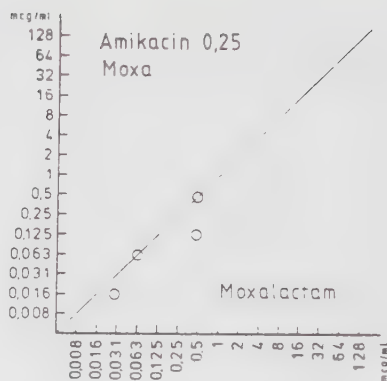
29 d

Abb. 29: PROTEUS RETTGERI (N=4) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

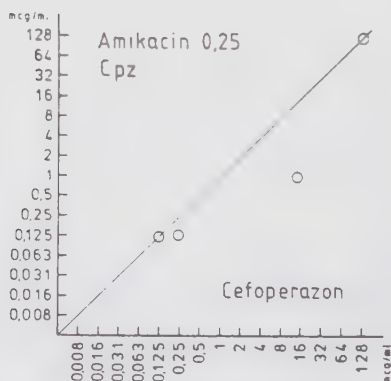
- a - Netilmicin und Cefotaxim
- b - Netilmicin und Moxalactam
- c - Netilmicin und Cefoperazon
- d - Netilmicin und Cefoxitin



30 a



30 b



30 c

Abb. 30: PROTEUS RETTGERI (N=4) - Verhalten in der Kombination von Aminoglykosiden und Cephalosporinen

- a - Amikacin und Cefotaxim
- b - Amikacin und Moxalactam
- c - Amikacin und Cefoperazon

ein partieller Synergismus beobachtet wurde. Zu einem partiellen Antagonismus kam es bei *Proteus rettgeri* in der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim. Ein partieller Synergismus wurde bei *Proteus rettgeri* in den Kombinationen von Netilmicin mit Moxalactam und Cefoxitin gesehen. In der Kombination Amikacin mit Cefotaxim bei *Proteus rettgeri* und *Proteus vulgaris* muß auch ein partieller Synergismus angenommen werden; desgleichen in der Verbindung von Netilmicin mit Cefotaxim bei *Proteus vulgaris*. Durch eine "Checkerboard"-Titration könnten weitere Aussagen über die Wirksamkeit dieser Antibiotikakombinationen gemacht werden. Bei *Klebsiella pneumoniae* konnte in der Kombination von Netilmicin mit Cefoxitin bzw. Moxalactam ebenfalls ein partieller Synergismus beobachtet werden. Antagonistische Wirkungen waren nicht zu verzeichnen.

4.3 Ergebnisse der Bakterizidie-Kinetik

Die antibakterielle Aktivität der Antibiotikakombinationen bzw. Einzelantibiotika wurde im zeitlichen Ablauf mit Hilfe der Bakterizidie-Kinetik beobachtet.

Die Absterberate von *Proteus vulgaris* 191 wurde unter der Einwirkung von β -Laktamantibiotika alleine und in Kombination untersucht. Die dabei verwendeten Antibiotikakonzentrationen entsprachen jeweils der Hälfte und dem Doppelten der MHK-Werte dieser Substanzen. Der MHK-Wert des Mezlocillin gegen *Proteus vulgaris* 191 betrug 2,0 mcg/ml, Cefotaxim 0,063 mcg/ml, Cefoperazon 2,0 mcg/ml und Azlocillin 8,0 mcg/ml. Die Ausgangsbakterienzahl schwankte zwischen 10^5 - 10^6 Keimen/ml.

Die Absterberate des *Proteus vulgaris* 191 unter der Einwirkung von Mezlocillin 4,0 mcg/ml, Cefoperazon 4,0 mcg/ml und deren Kombination in der gleichen Konzentration wird in der Abb. 31 dargestellt. Die bakterizide Wirkung trat nach einer Latenzphase von 2 bis 4 Stunden ein (Tab. 21). Im weiteren Verlauf kam es nach 6 Stunden zu einem Abfall der Bakterienzahl auf 10^3 Keime/ml.

Mezlocillin war in seiner Wirkung etwas schwächer als Cefoperazon. Die Bakterienzahl lag beim Mezlocillin knapp über 10^4 Keimen/ml. Die Kombination Mezlocillin mit Cefoperazon zeigte das gleiche Verhalten wie Cefoperazon allein. Nach 24 Stunden Bebrütung kam es sowohl bei

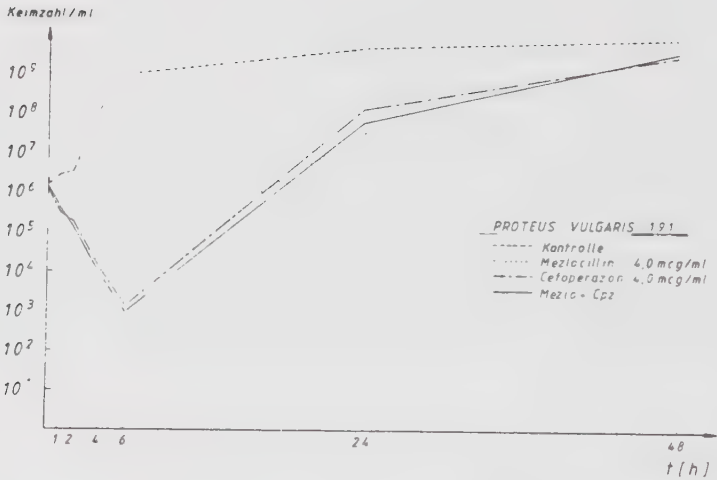


Abb. 31: Kinetik der Bakterizidie von Mezlocillin und Cefoperazon allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

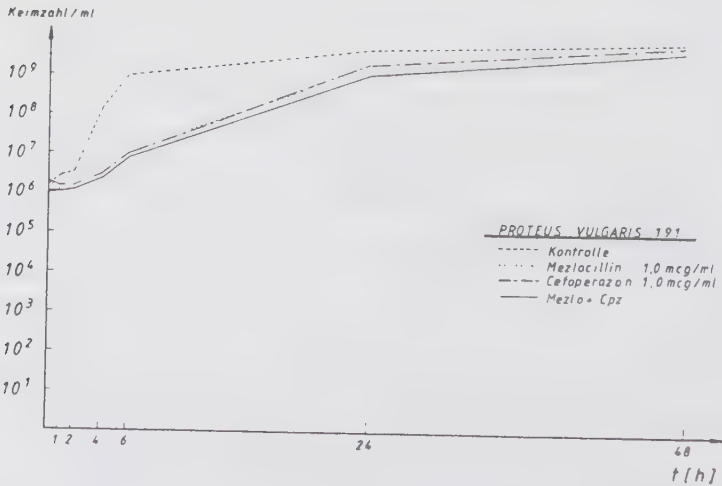


Abb. 32: Kinetik der Bakterizidie von Mezlocillin und Cefoperazon allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

den Einzelsubstanzen als auch in der Kombination zu einem Wiederauwachsen der Bakterienzahl auf 10^7 - 10^8 Keime/ml. Nach 48 Stunden Bebrütung war das Keimwachstum in der Kontrolle als auch bei den behandelten Keimen gleich hoch.

Durch die Dosisreduktion auf die Hälfte der MHK-Werte konnte (Tab. 22) keine bakterizide Wirkung erzielt werden (Abb. 32). Als bakterizide Wirkung eines Antibiotikums galt die 99 %ige Abtötung der Keimzahl des Kontrollstammes.

Die Absterberate des *Proteus vulgaris* 191 unter der Einwirkung von Mezlocillin 4,0 mcg/ml bzw. 1,0 mcg/ml, Cefotaxim 0,125 mcg/ml bzw. 0,031 mcg/ml und deren Kombinationen in den entsprechenden Konzentrationen wurde untersucht (Tab. 21-22). Aus der Abb. 33 ist ersichtlich, daß die Wirkung der Kombination Mezlocillin mit Cefotaxim in den dort angegebenen Konzentrationen keinen Vorteil im Vergleich zu der Wirkung der Einzelantibiotika gebracht hat. Nach 6 Stunden Bebrütung war die Bakterienzahl auf $7 \cdot 10^3$ Keime/ml abgefallen. Nach 24 Stunden Bebrütung kam es wieder zu einem Anstieg auf 10^6 - 10^7 Keime/ml und nach weiteren 24 Stunden Bebrütung war das Keimwachstum in der Kontrolle, wie auch bei den behandelten Keimen gleich hoch.

Durch die Dosisreduktion des Mezlocillin und Cefotaxim auf die Hälfte der MHK-Werte gegen *Proteus vulgaris* 191 konnte keine bakterizide Wirkung erzielt werden (Abb. 34). Das Keimwachstum in der Kombination Mezlocillin mit Cefotaxim zeigte keinen Unterschied im Vergleich zu den Einzelantibiotika. Schon nach 24 Stunden Bebrütung lag das Keimwachstum der behandelten Keime und das des Kontrollkeimes bei 10^8 - 10^9 Keimen/ml dicht beisammen.

Ein ähnliches Verhalten wurde auch in der Kombination Azlocillin 16,0 mcg/ml bzw. 4,0 mcg/ml und Cefotaxim 0,125 mcg/ml bzw. 0,031 mcg/ml beobachtet (Tab. 19-20). Das Keimwachstum in der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim lag in beiden Fällen konstant niedriger als das der Einzelsubstanzen. Aus Abb. 35 ist ersichtlich, daß die bakterizide Wirkung der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim in der dort angegebenen Konzentration deutlich stärker ist als die des Azlocillin allein. Eine bakterizide Wirkung war nach 2-4 Stunden zu beobachten. Nach 6 Stunden Bebrütung kam es zu einem Abfall der Bakterienzahl in der Kombination auf 10^4 Keime/ml.

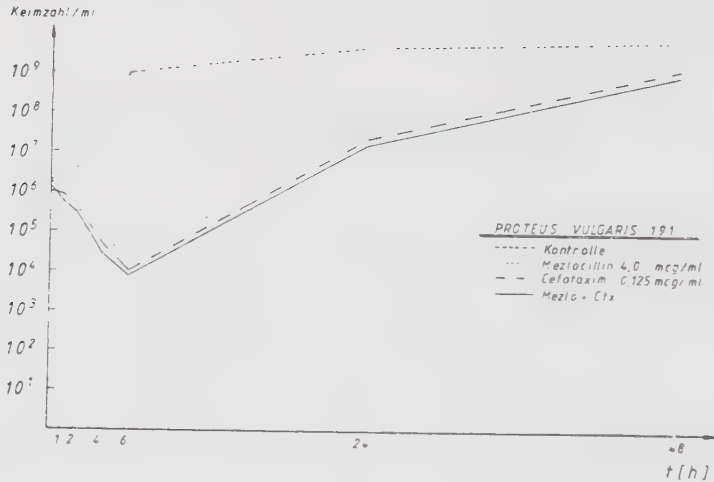


Abb. 33: Kinetik der Bakterizidie von Mezlocillin und Cefotaxim allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

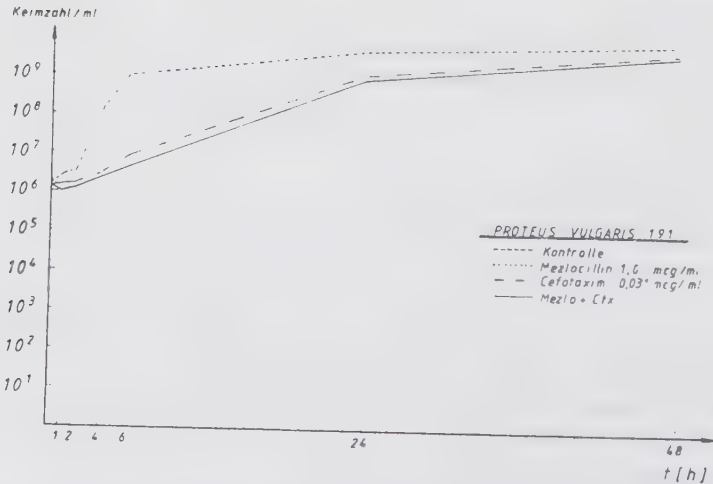


Abb. 34: Kinetik der Bakterizidie von Mezlocillin und Cefotaxim allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

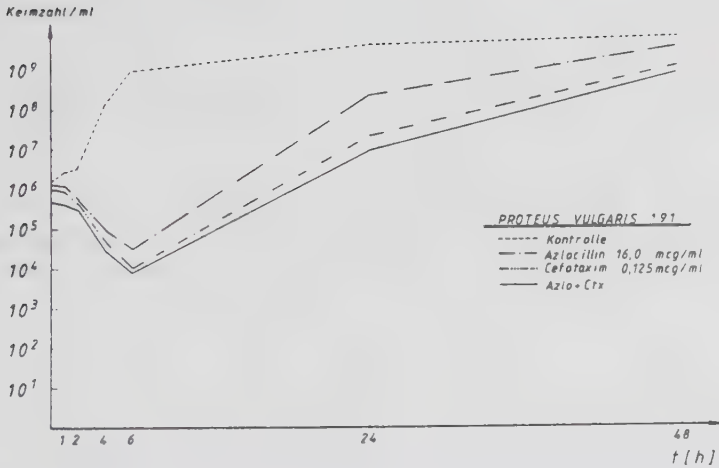


Abb. 35: Kinetik der Bakterizidie von Azlocillin und Cefotaxim allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

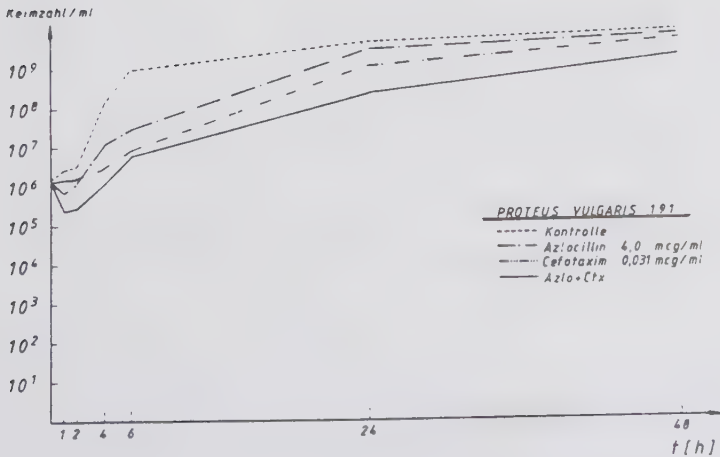


Abb. 36: Kinetik der Bakterizidie von Azlocillin und Cefotaxim allein und in Kombination gegenüber *Proteus vulgaris* 191

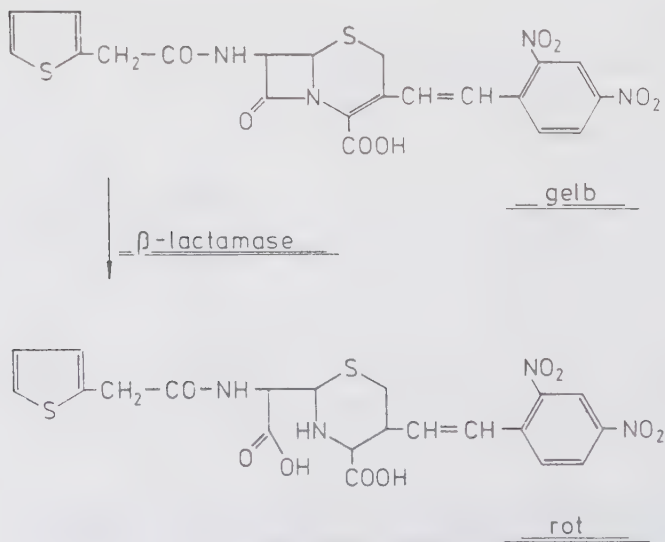
Die Abb. 36 zeigt die Absterberate des *Proteus vulgaris* 191 unter der Einwirkung von Azlocillin, Cefotaxim und deren Kombination nach einer Dosisreduktion auf die Hälfte der MHK-Werte.

Die Bakterienzahl in der Kombination lag deutlich niedriger als die der Einzelsubstanzen. Eine relevante Wirkungssteigerung konnte jedoch durch die Kombination nicht erzielt werden.

Insgesamt kam es bei den untersuchten Kombinationen von β -Laktaman-tibiotika zu keiner Wirkungssteigerung gegenüber der Wirkung der Einzelantibiotika. Es wurden nur Indifferenzen beobachtet.

4.4 Ergebnisse der β -Laktamasebestimmung

Die β -Laktamaseaktivität von 42 randomisiert ausgewählten Enterobakteriaceen und *Pseudomonas aeruginosa* wurde unter Verwendung von Nitrocefin (chromogene Cephalosporinverbindung 87/312) bestimmt. Die Amidverbindung im β -Laktamring des Nitrocefin wurde durch die β -Laktamasen hydrolysiert und führte zu einem Farbumschlag von gelb auf rot:



Anhand der Zeit, in der der Farbumschlag erfolgte, wurde die β -Laktamaseaktivität durch ein einfaches, schnelles Verfahren bestimmt. Die Ergebnisse der β -Laktamasebestimmungen auf festem und flüssigem Nährboden waren identisch.

Bei den Proteus rettgeri-Stämmen wurde eine unterschiedliche β -Laktamaseproduktion beobachtet: Bei zweien der Stämme war die β -Laktamaseaktivität gering, während bei den restlichen Stämmen eine hohe β -Laktamaseaktivität bestand. Ein Vergleich mit den MHK-Werten der getesteten β -Laktamantibiotika zeigte ein ähnliches Verhalten von je zwei Proteus rettgeri-Stämmen. Die Keime mit hoher β -Laktamaseaktivität reagierten auf die entsprechenden Antibiotika weniger empfindlich als die Stämme mit geringer β -Laktamaseaktivität. Lediglich bei Moxalactam und Cefotaxim lagen die MHK-Werte konstant 0,5 mcg/ml (Tab. 3). Die beiden Keime mit geringer β -Laktamaseaktivität hatten einen Ampicillin-Hemmhofdurchmesser von 19 bzw. 30 mm. Bei den Proteus rettgeri-Stämmen mit hoher β -Laktamaseproduktion kam es zu keiner Ausbildung von Hemmhöfen (Abb. 38).

Bei Proteus vulgaris war konstant eine mäßige β -Laktamaseaktivität nachzuweisen. Die Hemmhofdurchmesser des Ampicillin lagen zwischen 9-30 mm. Lediglich bei zweien der Proteus vulgaris-Stämme kam es zu keiner Ausbildung von Hemmhöfen (Abb. 38).

Die β -Laktamaseproduktion der Proteus morganii-Stämme war unterschiedlich. Bei zweien der Stämme war die β -Laktamaseaktivität nur gering, während es bei den restlichen Stämmen zu einer mäßigen bis sehr hohen β -Laktamaseproduktion kam. Bei den Stämmen mit hoher bis sehr hoher β -Laktamaseaktivität betrugen die Hemmhofdurchmesser 0-2 mm; bei denen mit geringer und mäßiger Produktion von β -Laktamasen lagen die Hemmhofdurchmesser des Ampicillin zwischen 10-21 mm (Abb. 38).

Bei allen Pseudomonas aeruginosa-Stämmen bestand eine mäßige bis hohe β -Laktamaseproduktion. Die Aktivität des Ampicillin wurde offensichtlich durch die β -Laktamasen gehemmt (Abb. 37). Es kam konstant zu keiner Ausbildung der Hemmhöfe.

Bei sechs Klebsiella pneumoniae-Stämmen (Abb. 37) war die β -Laktamaseaktivität nur gering. Bei diesen Stämmen betrug der Ampicillin-Hemmhofdurchmesser zwischen 9-17 mm. Eine mäßige bis hohe β -Laktamaseaktivität wurde bei den restlichen vier Klebsiella pneumoniae-Stämmen beobachtet. Die Hemmhofdurchmesser des Ampicillin lagen bei diesen Stämmen zwischen 0-3 mm.

Allgemein konnte eine gewisse Korrelation zwischen dem Ampicillin-Hemmhofdurchmesser und der mit dem Nitrocefinverfahren bestimmten β -Laktamaseaktivität beobachtet werden. Die Größe des Ampicillin-Hemmhofes erlaubte nur eine grobe Differenzierung der Aktivität der β -Laktamasen. Eine mäßige bis sehr hohe β -Laktamaseaktivität entsprach Ampicillin-Hemmhofdurchmessern zwischen 0-3 mm. Es konnte keine Korrelation zwischen den MHK-Werten und der β -Laktamaseproduktion beobachtet werden. Lediglich bei *Proteus rettgeri* wurden die MHK-Werte auf die unterschiedliche β -Laktamaseaktivität zurückgeführt.

Diese einfache Methode zur Bestimmung der β -Laktamasenbildung von Bakterien kann routinemäßig in der Klinik verwendet werden.

Stämme	β -Laktamaseaktivität auf festem Nährboden	flüssigem Nährboden	Ampicillin- Hemmhofdurch- messer (mm)
PSEUDOMONAS AERUGINOSA			
268/79	+	+	0
079/79	++	++	0
053/79	++	++	0
157/79	+	+	0
035/79	+	+	0
855/79	+	+	0
055/79	++	++	0
817/79	+	+	0
050/79	+	+	0
KLEBSIELLA PNEUMONIAE			
011/79	+	+	0
052/79	++	++	0
060/79	0	0	11
151/79	0	0	9
274/79	0	0	17
276/79	0	0	15
287/79	0	0	12
289/79	0	0	11
295/79	+	+	0
377/79	+	+	3

Abb. 37: Vergleich zwischen Nitrocefin-Verfahren und Ampicillin-Hemmhöfen zur Bestimmung der β -Laktamaseaktivität

Stämme	β -Laktamaseaktivität auf festem Nährboden	flüssigem Nährboden	Ampicillin- Hemmhofdurch- messer (mm)
PROTEUS RETTGERI			
310/79	++	++	0
204/79	0	0	19
853/79	0	0	30
753/79	++	++	0
PROTEUS VULGARIS			
087/79	+	+	25
276/79	+	+	30
340/79	+	+	0
067/79	+	+	12
712/79	+	+	18
100/79	+	+	0
191/79	+	+	9
273/79	+	+	13
550/79	+	+	16
699/79	+	+	14
PROTEUS MORGANII			
011/79	0	0	11
102/79	+	+	13
062/79	+++	+++	0
119/79	+++	+++	0
933/79	++	++	2
112/79	++	++	0
840/79	++	++	0
853/79	+	+	10
238/79	0	0	21

Abb. 38: Vergleich zwischen Nitrocefin-Verfahren und Ampicillin-Hemmhöfen zur Bestimmung der β -Laktamaseaktivität

4.5 Ergebnisse der tierexperimentellen Untersuchungen an der Granuloma Pouch

4.5.1 Verhalten der Keime in der Granuloma Pouch

Aufgrund histologischer, klinisch-chemischer und mikrobiologischer Daten stellt das "Granuloma Pouch"-Modell eine lokale bakterielle Infektion in einer abwehrgeschwächten Körperhöhle dar. Pharmakokinetisch kann die Granuloma Pouch als tiefes Kompartiment gekennzeichnet werden.

Dieses Modell bietet den Vorteil, daß es individuell einen zeitabhängigen Bakterienclearance-Verlauf auch während eines mehrtägigen Versuchszeitraums zu ermitteln erlaubt.

Am "Granuloma Pouch"-Modell wurden tierexperimentelle Untersuchungen zum Kombinationseffekt von Mezlocillin mit Cefotaxim bzw. Cefoperazon durchgeführt (14, 15).

Mikrobiologische, histologische und biochemische Untersuchungen der Granuloma Pouch wurden von Dalhoff et al. ausgeführt (12, 13). Diese Untersuchungen an *Escherichia coli* ergaben, daß im Verlauf der Infektion sich die entzündliche Reaktion im Vergleich zu den nicht infizierten Kontrollen gesteigert hatte. Anhand von vier unterschiedlichen *Escherichia coli*-Stämmen konnte festgestellt werden, daß das Wachstumsverhalten der Stämme in vitro in Humanserum, Rattenserum sowie Pouch-Exsudaten durch in vivo infizierte Pouchen widerspiegelt wurde.

4.5.2 Wirkung der β -Laktamantibiotika in der infizierten Granuloma Pouch

Die Wirksamkeit der β -Laktamantibiotika in vivo wurde an vier *Proteus vulgaris*-Stämmen (550, 191, 67, 276) mit unterschiedlicher β -Laktamaseproduktion untersucht. Die β -Laktamaseproduktion dieser Keime wurde jodometrisch (15) unter Verwendung von Penicillin G als Substrat nach der Methode von Perrett (105) bestimmt. Die Dosis der Antibiotika wurde aufgrund der vorliegenden pharmakokinetischen Parameter (49, 76) bei einer üblichen Tagesdosis von 3×2 g/die Cefoperazon, 3×2 g/die Cefotaxim und 3×5 g/die Mezlocillin gewählt.

Die Pouch-Exsudate wurden mit einer hohen Keimzahl von *Proteus vulgaris* beimpft. Die Keimzahl war während der fünf Versuchstage bei den Kontrolltieren im Pouch-Exsudat annähernd konstant bei 10^8 Keimen/ml geblieben. Die Behandlung der infizierten Pouchen begann sofort nach Keiminokulation.

Die Einzelantibiotika sowie deren Kombinationen haben sich unterschiedlich verhalten.

Der Stamm 550 (Tab. 25) zeigte nur eine geringe Empfindlichkeit gegen Mezlocillin, Cefotaxim und Cefoperazon allein sowie in der Kombination von Mezlocillin mit Cefoperazon (Abb. 39) und von Cefotaxim mit Cefoperazon (Abb. 41). Das Keimwachstum der beiden Kombinationen lag bei 10^7 Keimen/ml, nur eine $\log_{10}$ -Stufe niedriger als das der Kontrolle. Die gleichzeitige Behandlung von Mezlocillin und Cefotaxim (Abb. 40) führte zu einem beachtlichen Abfall der Keimzahl. Die Bakterienzahl lag in der Kombination um fünf $\log_{10}$ -Stufen niedriger.

Beim Stamm 191 (Tab. 23) wurde die Keimzahl durch Mezlocillin, Cefoperazon und deren Kombination (Abb. 42) nur geringfügig reduziert. Cefotaxim hingegen führte zu einer beachtlichen Keimreduktion um fünf $\log_{10}$ -Stufen gegenüber der Kontrolle (Abb. 44). Die Kombination von Cefotaxim mit Mezlocillin (Abb. 43) brachte bei diesem Stamm keine weitere Wirkungssteigerung.

Mezlocillin, Cefotaxim und deren Kombination führte beim Stamm 67 (Tab. 28) zu einem raschen Abfall der Keimzahl um fünf bis sechs $\log_{10}$ -Stufen im Pouch-Exsudat (Abb. 46). Die Kombination dieser β -Laktamantibiotika brachte jedoch gegenüber der Monotherapie keine weitere Wirkungssteigerung. Der Stamm 67 war weniger empfindlich gegen Cefoperazon (Abb. 45). Die Kombination von Cefoperazon mit Mezlocillin zeigte die gleiche Wirksamkeit wie Mezlocillin allein. In der Kombination von Cefotaxim mit Cefoperazon (Abb. 47) war keine Wirkungssteigerung im Vergleich zur Wirksamkeit des Cefotaxim allein zu verzeichnen.

Proteus vulgaris 276 (Tab. 24) war gegenüber allen untersuchten β -Laktamantibiotika und deren Kombinationen gleich empfindlich. Unter der Behandlung mit Mezlocillin und Cefotaxim allein sowie deren Kombination (Abb. 49) kam es zu einem Abfall der Keimzahl um fünf $\log_{10}$ -Stufen bei

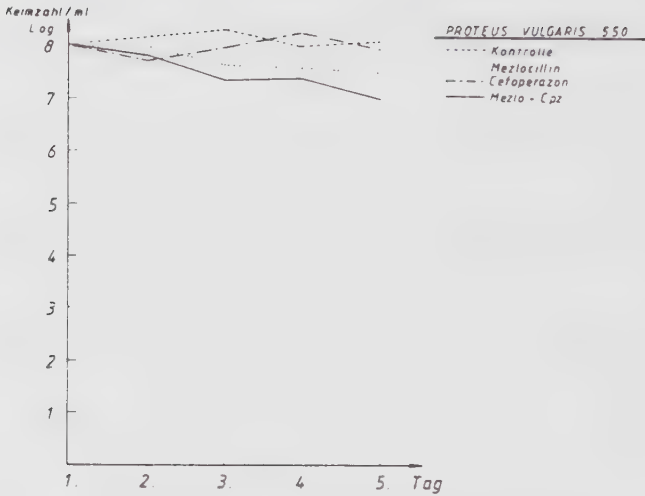


Abb. 39: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 550

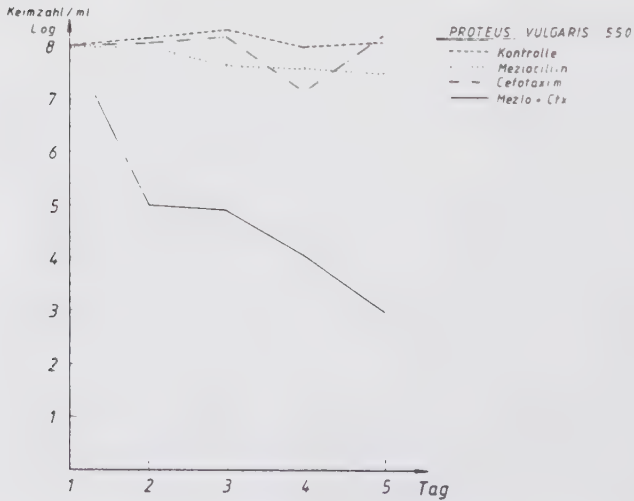


Abb. 40: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 550

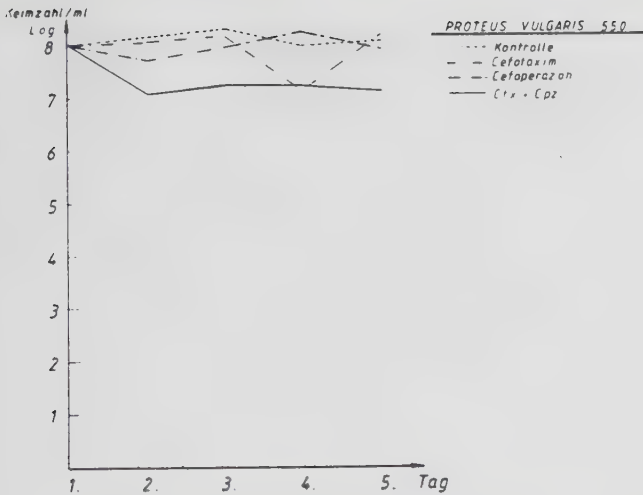


Abb. 41: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 550

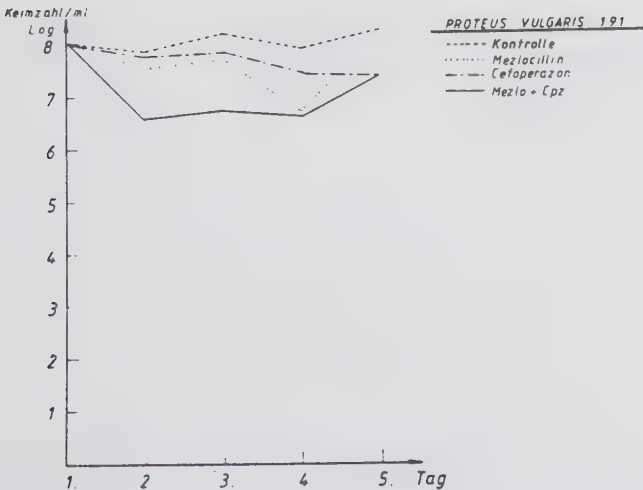


Abb. 42: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 191

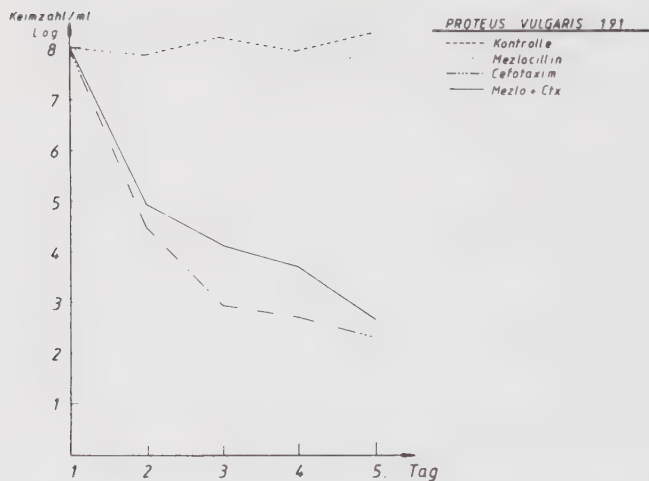


Abb. 43: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 191

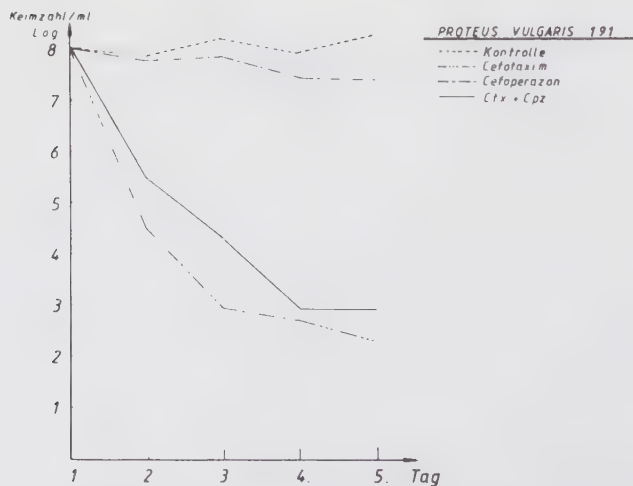


Abb. 44: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 191

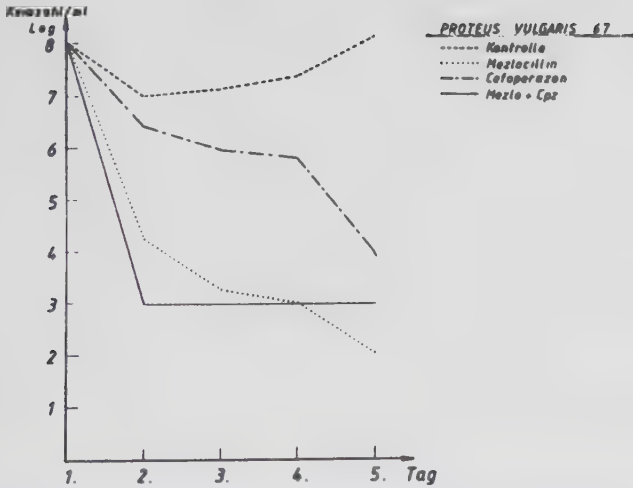


Abb. 45: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 67

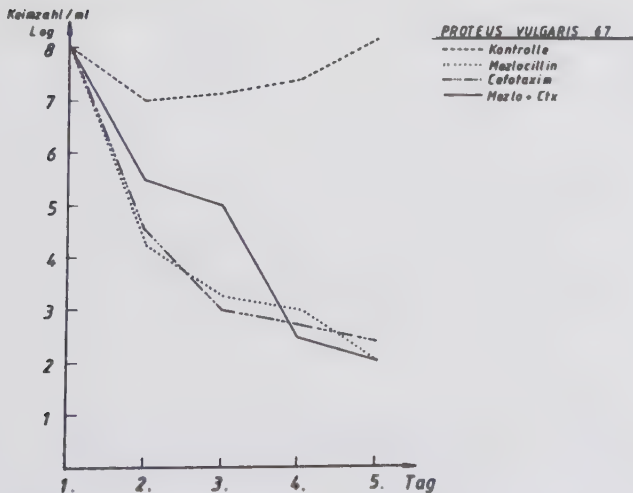


Abb. 46: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 67

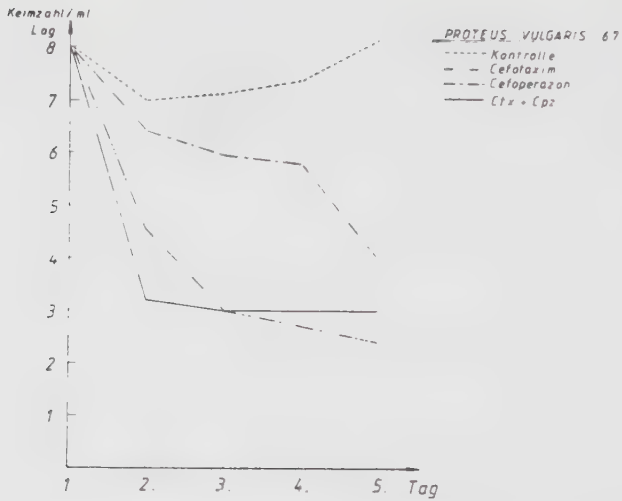


Abb. 47: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 67

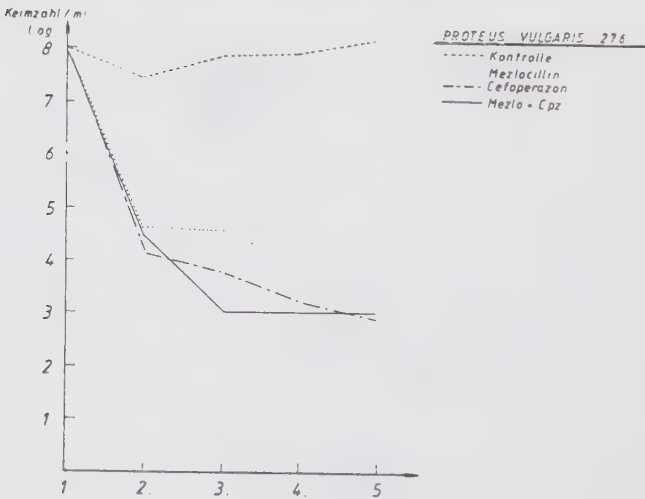


Abb. 48: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 276

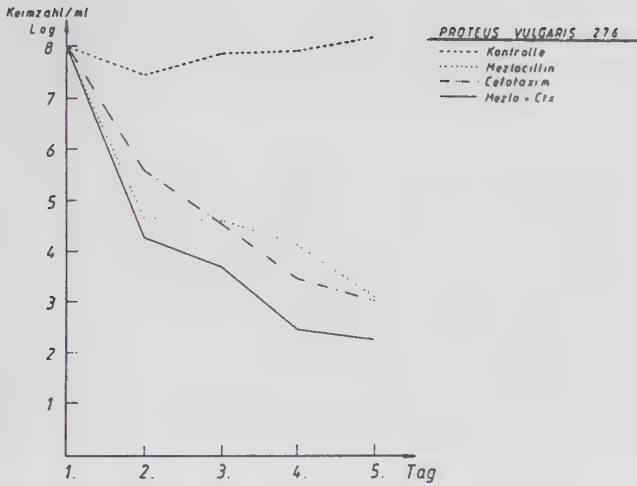


Abb. 49: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 276

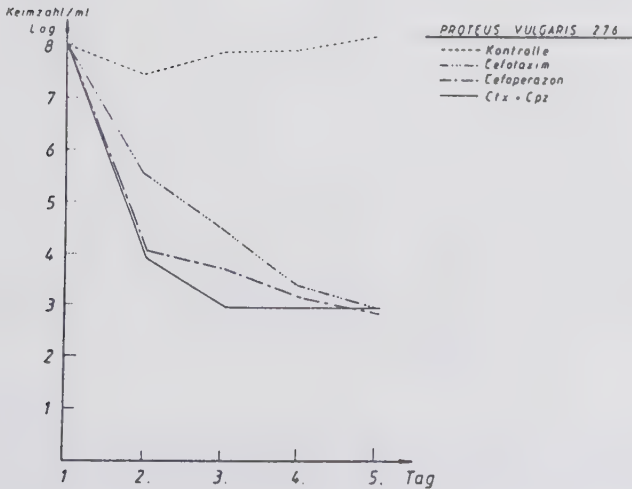


Abb. 50: Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch - *Proteus vulgaris* 276

den Einzelsubstanzen und um sechs $\log_{10}$ -Stufen in der Kombination. Eine hohe Empfindlichkeit zeigte auch die Kombination von Mezlocillin mit Cefoperazon (Abb. 48) und von Cefotaxim mit Cefoperazon (Abb. 50). Auch hier kam es zu einem Abfall der Keimzahl auf 10^3 Keime/ml.

Insgesamt wurden in vivo in der Kombination von β -Laktamantibiotika überwiegend indifferente Effekte beobachtet. Beim *Proteus vulgaris*-Stamm 550 konnte in der Kombination von Mezlocillin mit Cefotaxim ein partieller Synergismus gesehen werden. Beim Vergleich der einzelnen Antibiotikakombinationen kann festgestellt werden, daß in der Kombination von Mezlocillin mit Cefotaxim das Keimwachstum in allen Pouch-Exsudaten am 5. Therapietag 10^3 Keime/ml betrug. In der Kombination Mezlocillin und Cefoperazon konnte bei zweien der Stämme keine bakterizide Wirkung erreicht werden.

5 DISKUSSION

5.1 Minimale Hemmkonzentration und minimale bakterizide Konzentration der Einzelantibiotika

Acylureido-Penicilline

Mezlocillin und Azlocillin sind β -Laktamantibiotika aus der Gruppe der Acylureido-Penicilline, deren antibakterielles Wirkungsspektrum bevorzugt im gramnegativen Bereich liegt. In vitro zeigt Azlocillin eine signifikant niedrigere minimale Hemmkonzentration als Carbenicillin und Ticarcillin gegen *Pseudomonas aeruginosa* (77, 39, 57, 128). In den durchgeführten Untersuchungen konnte in vitro eine sehr gute Wirksamkeit des Azlocillin gegen *Pseudomonas aeruginosa* und *Proteus vulgaris* (Tab. 1-5) beobachtet werden. Allerdings waren zwei der untersuchten *Pseudomonas*-Stämme mit MHK-Werten von 128 mcg/ml resistent. Es ist bekannt, daß die MHK-Werte von der Dichte der Keimeinsaat abhängig sind. In den von uns durchgeführten Untersuchungen betrug die Dichte der Keimeinsaat 10^6 Keime/ml. Knothe (54) bewies anhand unterschiedlicher Keiminokkulationsdichten von *Pseudomonas aeruginosa* eine Diskrepanz der MHK-Werte bei Azlocillin. Die hohen MHK-Werte von *Klebsiella pneumoniae* unter der Einwirkung von Azlocillin stimmen mit den Untersuchungen von Reeves et al. (108) überein. Azlocillin ist weniger aktiv als Mezlocillin gegen die üblichen gramnegativen Keime. Es ist das Penicillin der Wahl bei nachgewiesenen *Pseudomonas*-Infektionen. Die MBK-Werte des Azlocillin lagen bei *Pseudomonas aeruginosa* um 1-3 Stufen höher als die minimale Hemmkonzentration. Mezlocillin ist bekannt für seine besondere Wirksamkeit gegen die meisten Enterobacteriaceae (77), auch teilweise gegen *Klebsiella pneumoniae*. Mezlocillin hemmt etwa 50-80 % der *Klebsiella*-Spezies bei therapeutisch erreichbaren Konzentrationen (133). *Pseudomonas aeruginosa* sowie Penicillinase bildende Bakterien sind weniger empfindlich gegen Mezlocillin.

Cephalosporine

Aus der Gruppe der Cephalosporine wurden Moxalactam, Cefoperazon, Cefotaxim und Cefoxitin gegen 42 randomisiert ausgewählte Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* untersucht.

Moxalactam ist ein bakterizid wirkendes, halbsynthetisches Antibiotikum aus der Gruppe der Oxa-Betalactamantibiotika, dessen Wirkungsspektrum sowohl den gramnegativen als auch den grampositiven Erregerbereich umfaßt (106). Das Wirkungsspektrum erfaßt auch *Pseudomonas aeruginosa*. In den vorliegenden Untersuchungen ist eine mäßige Empfindlichkeit gegen *Pseudomonas aeruginosa* zu verzeichnen. Moxalactam besitzt eine hohe Empfindlichkeit gegen Enterobacteriaceae (19, 83). Am aktivsten war Moxalactam gegen *Proteus rettgeri*. In unseren Untersuchungen liegen die MHK-Werte der untersuchten Enterobacteriaceae 0,4 mcg/ml. Hinsichtlich der MHK-Werte ergab sich eine gute Übereinstimmung unserer Ergebnisse mit denen von Fass (23). Auffallend ist, daß die minimale Hemmkonzentration für die meisten Erreger mit der bakteriziden Konzentration übereinstimmte (109, 81). Diese Übereinstimmung konnte anhand der durchgeführten Untersuchungen bestätigt werden. Moxalactam ist ein Methoxy-C7-Derivat unter den Cephalosporinen und besitzt eine erhöhte Resistenz gegenüber gramnegativen β -Laktamasen.

Cefoperazon ist ein halbsynthetisches Cephalosporin mit einem sehr breiten antibakteriellen Spektrum. Es umfaßt sowohl grampositive als auch gramnegative Erreger. Auffallend ist seine Aktivität gegen *Pseudomonas aeruginosa*, wodurch Cefoperazon eindeutig eine Überlegenheit gegenüber Moxalactam und Cefotaxim (50) zeigt. Auch in unseren Untersuchungen liegen die MHK-Werte gegen *Pseudomonas aeruginosa* bei 2 mcg/ml (Tab. 5). Das breite Spektrum von Cefoperazon ist durch dessen Stabilität gegenüber vielen β -Laktamasen zu erklären. Am aktivsten war Cefoperazon gegen *Proteus vulgaris* (MHK 0,5 mcg/ml). Die Ergebnisse stimmen mit den Literaturangaben (45) überein. Die minimale bakterizide Konzentration lag um 1-2 Verdünnungsstufen über der minimalen Hemmkonzentration. Entsprechende Ergebnisse konnten von Wise et al. (146) ebenfalls festgestellt werden.

Cefotaxim ist ein halbsynthetisches Cephalosporin, welches das für diese Gruppe charakteristische Wirkungsspektrum gegenüber grampositiven und insbesondere gramnegativen Erregern umfaßt. Es zeichnet sich durch eine hohe β -Laktamasestabilität, durch ein gutes Penetrationsvermögen durch die Bakterienzellwand sowie durch hohe Affinität zu den Zellwandproteinen aus (107, 41). In den durchgeführten Untersuchungen

zeigte Cefotaxim die beste Wirkung gegen *Proteus vulgaris* mit MHK-Werten von 0,01 mcg/ml. Die MHK-Werte der noch untersuchten Enterobacteriaceae lagen ebenfalls sehr niedrig und stimmen mit den Ergebnissen von Neu et al. überein (97). Die minimale bakterizide Konzentration entsprach im Durchschnitt der minimalen Hemmkonzentration oder lag eine Stufe höher.

Cefoxitin gehört zur Gruppe der halbsynthetischen Cephalosporine mit hoher β -Laktamasestabilität und hoher metabolischer Stabilität (103, 58, 31). Das antibakterielle Wirkungsspektrum umfaßt sowohl den grampositiven wie auch den gramnegativen Bereich. Cefoxitin war in den vorliegenden Untersuchungen am aktivsten gegen *Proteus vulgaris*. Die MHK-Werte betrugen im Mittel 2,6 mcg/ml. Die MHK-Werte für *Proteus rettgeri* und *Klebsiella pneumoniae* lagen ebenfalls in diesem Bereich und stimmten mit den Literaturangaben (58) überein. Die minimale bakterizide Konzentration war 1-2 Stufen höher als die minimale Hemmkonzentration.

Aminoglykoside

Netilmicin und Amikacin sind bakterizid wirkende Antibiotika, die bei der Behandlung schwerer Infektionen eine wichtige Position einnehmen. Aminoglykoside enthalten entweder Streptidin oder 2-Desoxystreptamin, wobei letzteres in den Positionen 4 und 5 oder 4 und 6 mit verschiedenen, eventuell modifizierten Amino hexosen verbunden sein kann. Aminoglykoside sind bakterizid wirksam gegen gramnegative Aerobier und gegen Staphylokokken. Streptokokken sowie viele Anaerobier sind resistent. Ihre Wirkung besteht in der Hemmung der ribosomalen Proteinsynthese (80). Die Resistenz kann von Bakterien auf drei Wegen erworben werden: durch Mutation, die aus einer Unempfindlichkeit der Ribosomen resultiert, durch Hemmung des Transports in die Zelle und durch Erwerb von Plasmiden, die die Produktion von inaktivierenden Enzymen codieren (16). Aminoglykoside wirken bakterizid durch die Hemmung der Proteinsynthese. Es kommt zu einer Bindung mit den 30-S-Untereinheiten der Bakterienribosomen. Dadurch wird die Translation gestört. Somit werden falsche Proteine gebildet. Dies führt zur Störung der Membranfunktion und zum Aufbau funktionsunfähiger Enzyme. Der Efflux von Zytoplasmabestandteilen durch die geschädigte Bakterienmembran

führt dann zum Absterben der Keime.

Auffallend ist, daß Bakterizidie und Bakteriostase bei Aminoglykosiden dicht beieinander liegen, was durch den Wirkungsmechanismus zu erklären ist.

Netilmicin ist ein halbsynthetisches Derivat des Sisomicins. Netilmicin ist stabil gegen aminoglykosid-inaktivierende Enzyme, gegen eine Vielzahl Gentamicin- und sogar einige Amikacin-resistente Erreger. In unseren Untersuchungen war *Klebsiella pneumoniae* am empfindlichsten gegen Netilmicin. Eine mäßige Empfindlichkeit zeigte auch *Pseudomonas aeruginosa*. Die MHK-Werte stimmten mit den Ergebnissen von Braveny et al. (8) überein (Tab. 1-5).

Amikacin ist ein halbsynthetisches Derivat des Kanamycins. In den vorliegenden Untersuchungen war Amikacin am aktivsten gegen *Klebsiella pneumoniae*. Grimm (34) zeigte bereits 1979 in seinen Untersuchungen die Überlegenheit von Amikacin gegenüber *Klebsiella*-spezies. Auffallend war ebenfalls seine Sensibilität gegen *Pseudomonas aeruginosa* (Tab. 5) mit MHK-Werten von 1,7 mcg/ml. Amikacin hat das weiteste Spektrum, aber eine etwas geringere antibakterielle Wirkung. Für seine antibakterielle Aktivität sind höhere Serumspiegel notwendig. Amikacin zeichnet sich durch eine besondere Stabilität gegen aminoglykosid-inaktivierende Enzyme aus (69).

5.2 Kombinationen von β -Laktamantibiotika

Aufgrund einer Reihe von Untersuchungen wurde festgestellt, daß sich das Wirkungsspektrum der Acylureidopenicilline mit dem der neueren Cephalosporine gut ergänzt (6). Ein klassisches Beispiel dafür ist die Kombination von Azlocillin und Cefotaxim. Es wurde jedoch nach Kombinationen gesucht, die weniger zur Verbreiterung des Spektrums, sondern mehr zur Förderung der Bakterizidie für den Patienten führen. In den vorliegenden Untersuchungen wurde in vitro die Wirkung von β -Laktamantibiotika an *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas aeruginosa* untersucht. In der Kombination von Azlocillin mit Cefotaxim konnte ein partieller Synergismus bei *Pseudomonas aeruginosa* beobachtet werden (Tab. 8). Zinner et al. (149) berichten ebenfalls von einem Synergis-

mus dieser Kombination bei *Pseudomonas aeruginosa*. In 100 % der untersuchten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme mit dieser Kombination wurde von Fass (22) über eine Indifferenz berichtet; in beiden Fällen wurden die Untersuchungen mit einer Schachbrett (Checkerboard)-Titration durchgeführt. Mit dieser Methode wird die Beziehung von zwei Antibiotika quantitativ beurteilt und durch den sogenannten FIC-Index ausgedrückt:

$$\frac{(A)}{MHK\ A} = FIC\ A$$

$$FIC\ A \times FIC\ B = FIC\text{-Index}$$

(A) stellt die niedrigste Konzentration der Substanz A dar, die zusammen mit einer bestimmten Konzentration der Substanz B eine Hemmwirkung zeigt. Dividiert man diesen Wert durch die MHK der gleichen Substanz, erhält man die fraktionierte inhibitorische Konzentration - FIC A. In den vorliegenden Untersuchungen über die Wirkung von Antibiotikakombinationen wurde jeweils ein Antibiotikum in einer konstanten Konzentration jeder Verdünnungsstufe zugrunde gelegt. Dadurch sind die Ergebnisse nur bedingt mit der Literatur zu vergleichen. Es besteht die Möglichkeit, daß synergistische bzw. antagonistische Effekte nicht erfaßt wurden. Auf eine Checkerboard-Titration wurde in den vorliegenden Untersuchungen verzichtet. Ein Antibiotikum wurde jeweils in einer konstanten Konzentration, welche den in der Klinik applizierten Dosen entsprach, untersucht. Auf die Untersuchung hoher Konzentrationen, die in der Klinik nicht zu erreichen sind, wurde verzichtet.

Verschiedene Autoren berichten über synergistische, additive, indifferente wie auch über antagonistische Effekte in der Kombination von β -Laktamantibiotika (59, 85, 100, 145). Grimm (35) beschrieb eine Indifferenz in der Kombination von Azlocillin mit Cefotaxim bei *Pseudomonas aeruginosa*. Andrews et al. (3) sahen einen Synergismus in der Kombination von Azlocillin und Cefoxitin bei *Pseudomonas aeruginosa* und *Klebsiella pneumoniae*. Im Gegensatz dazu fiel Grimm (36) der Antagonismus zwischen Azlocillin und Cefoxitin auf, dessen Ursache offensichtlich auf eine β -Laktamaseinduktion zurückgeführt wurde. Ihm zufolge ist die extrazelluläre β -Laktamase für das Phänomen entscheidend. Auch Giamarellou et al. (30) berichten über einen Antagonismus der Kombination von Azlocillin mit Cefoxitin bei *Pseudomonas aeruginosa*. Van den Weghe et al. (143) versuchten, zwei hypothetische Erklärungen für

diesen Antagonismus zu geben:

- der Wettbewerb der β -Laktamantibiotika um Transportwege zu den Wirkorten
- eine gegenseitige Störung der β -Laktamantibiotika bei der Bildung stabiler inaktiver Komplexe mit essentiellen Enzymen der Zellwandsynthese.

Zahlreiche Untersuchungen zur Kombination von Cefoxitin mit Azlocillin bei *Pseudomonas aeruginosa* zeigten einen Antagonismus. Braveny (7) wies jedoch darauf hin, daß die Interaktionen zwischen den Antibiotika komplex sind und durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflußt werden. Es ist bekannt, daß gerade bei dieser Kombination unterschiedliche Ergebnisse veröffentlicht wurden. Der Autor meint zurecht, daß die Begriffe "Synergismus" und "Antagonismus" in vitro mit großer Vorsicht interpretiert werden müssen. Nur die klinische Untersuchung erlaubt ein Urteil über diese Kombinationen.

Knothe (55) berichtete über einen additiven Effekt der Kombination von Azlocillin mit Cefotaxim bei *Pseudomonas aeruginosa*. In den von uns durchgeführten Untersuchung zur Kombination dieser beiden Substanzen konnte ein partieller Synergismus beobachtet werden.

Mikrobiologische Studien haben bereits 1973 antagonistische Effekte bei der Kombination von β -Laktamantibiotika nachgewiesen. Erstmals berichtete Luboshitzky (79) über antagonistische Effekte in der Kombination von Cefaloridin mit Carbenicillin. Kammer und Neuhaus haben 1978 erstmals den Antagonismus zwischen Azlocillin und Cefoxitin beobachtet (48). Acar et al. (2) haben 1978 versucht, folgende Erklärungen für dieses Phänomen zu geben (Zitat):

- Ein betalaktamasestabiles Antibiotikum kann die Bildung von Betalaktamasen induzieren, die das zweite Antibiotikum, meist Penicillin, inaktivieren.
- Die schneller penetrierenden Cephalosporine binden sich an die "Penicillinbindepoteine", ohne selbst wirksam zu werden, und verhindern dadurch, daß das zweite Antibiotikum an diesen spezifischen Rezeptoren wirksam werden kann.
- Durch Veränderung der Bakterienoberfläche kann die Penetration für das zweite Antibiotikum erschwert werden.

Dazu muß bemerkt werden, daß sich Antibiotika in Körperflüssigkeiten grundsätzlich anders als in vitro verhalten können.

Die Wirkung der Kombinationen von β -Laktamantibiotika wurde mit den "Penicillinbindepoteinen" zu erklären versucht. Bakterien enthalten

mehrere spezifische Rezeptoren, die sogenannten penicillinbindenden Proteine (PBP), für β -Laktamantibiotika (5, 135). Dabei handelt es sich um integrale Membranproteine der Zytoplasmamembran mit hoher selektiver Affinität für die Bindung von β -Laktamantibiotika. Es wurden bisher mindestens 7 verschiedene PBP entdeckt (133). Die penicillinbindenden Proteine sind an der inneren bakteriellen Membran lokalisiert und lassen sich durch Gel-Elektrophorese auftrennen. Die Identifizierung erfolgt, indem man radioaktiv markiertes Benzylpenicillin zur Bindung benutzt (131). Hochwirksame β -Laktamantibiotika haben eine starke Bindungsaffinität für bakterielle Enzymproteine, wie Transpeptidase, DD-Carboxypeptidase, Endopeptidase. Die Bindung an die Proteine 1-3 hat eine Bedeutung als Angriffspunkt für β -Laktamantibiotika, während eine Bindung an die Proteine 4-6 nicht in jedem Fall erfolgt und für die Wirkung von Penicillinen und Cephalosporinen keine Voraussetzung ist. Es wurde festgestellt, daß Cefotaxim seine Bakterizidie durch Beeinträchtigung der PBP 1b, 3, 3', 4', 7 und 8 entfaltet. Eine Bindung an PBP 5 und 6 fehlt gänzlich (135). Die Ureidopenicilline binden vorzugsweise an das PBP 3 und geringfügiger auch die restlichen PBP mit Ausnahme des PBP 4, das keine Affinität zu den untersuchten Penicillinen hat (11). Die penicillinbindenden Proteine wären demnach ein weiterer Gesichtspunkt in der Erklärung des partiellen Synergismus in der Kombination Mezlocillin-Cefotaxim bei *Proteus vulgaris* und *Proteus rettgeri* sowie in der Kombination Azlocillin-Cefotaxim bei *Pseudomonas aeruginosa*. Mezlocillin und Azlocillin haben eine Affinität für das PBP 3 und 1.

Es muß dabei beachtet werden, daß Penicillin- oder Cephalosporinmoleküle unter in vivo-Bedingungen zunächst eine Permeabilitätsbarriere, die Zellwand, durchdringen müssen, die außerdem noch mit β -Laktamase durchsetzt sein kann (5). Besonders die "äußere Membran" stellt bei gramnegativen Erregern ein entscheidendes Diffusionshindernis dar. Diese Veränderungen verleihen zahlreichen Keimen wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* einen Teil ihrer Antibiotikaresistenz (133).

Der Kombinationseffekt von verschiedenen Antibiotika kann durch unterschiedliche Methoden untersucht werden. Moellering (89) hat unterstrichen, daß die Beobachtung eines Synergismus auch von der dazu verwendeten Untersuchungsmethode abhängt. Es gibt keine allgemein anerkannten Kriterien, die einen in vivo-Synergismus definieren. Zudem gibt

es für einen in vitro-Synergismus auch unterschiedliche Definitionen. Kurien et al. (60) haben über Diskrepanzen zwischen verschiedenen in vitro-Methoden berichtet. Jedes Ergebnis muß im Zusammenhang mit der zu dessen Bestimmung verwandten Methode gebracht werden. Wenn es in vitro unter den Ergebnissen der einzelnen Methoden Diskrepanzen gibt, muß man davon ausgehen, daß in vitro-Ergebnisse nicht einfach in vivo übertragen werden können.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde in der Kombination von Mezlocillin mit Cefoxitin bei Enterobacteriaceae eine Indifferenz beobachtet. Neuhaus (99) hat diese Kombination gegen *Proteus morganii* durch eine Checkerboard-Titration untersucht. Dabei war in der überwiegenden Anzahl der untersuchten Stämme ein Antagonismus zu verzeichnen.

In den von uns untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika wurde ein partieller Synergismus in den Kombinationen Mezlocillin-Cefotaxim (Tab. 17) bei *Proteus rettgeri* beobachtet. Die Wirkung des Cefotaxim allein gegen *Proteus vulgaris* war so gut, daß durch die Kombination mit Mezlocillin keine Wirkungssteigerung mehr gemessen werden konnte. Mezlocillin in der Kombination mit Cefoperazon, Moxalactam und Cefoxitin gegen Enterobacteriaceae (Tab. 15-17) sowie Azlocillin in der Kombination mit Cefoperazon bzw. Moxalactam gegen *Pseudomonas aeruginosa* (Tab. 8) zeigten indifferente Effekte.

5.3 Kombinationen von Aminoglykosiden mit Acylureidopenicillinen

Die antibakterielle Aktivität der Aminoglykoside läßt sich häufig durch die Kombination mit β -Laktamantibiotika synergistisch steigern. Es wurden drei verschiedene Kombinationen von Aminoglykosiden mit Acylureidopenicillinen gegen *Pseudomonas aeruginosa* bzw. gegen *Proteus vulgaris*, *Proteus morganii* und *Proteus rettgeri* untersucht.

Die verwandten Konzentrationen für die untersuchten Aminoglykoside entsprachen den in der Klinik applizierten Dosen. Es wurde auf die Untersuchung hoher Konzentrationen, die in der Klinik nicht zu erreichen sind, verzichtet.

In der Kombination von Amikacin mit Azlocillin wurde bei *Pseudomonas aeruginosa* ein partieller Synergismus beobachtet (Tab. 8). Diese Ergeb-

nisse stimmen mit den Untersuchungen von Neu et al. (98), Scribner et al. (118) und Zinner et al. (149) überein. Bei 75 % der untersuchten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme kam es in der Kombination zu einer Wirkungssteigerung um zwei bis vier Stufen gegenüber den Einzelantibiotika. Neu et al. (98) berichteten von einem Synergismus in der Kombination von Azlocillin und Mezlocillin mit Aminoglykosiden bei empfindlichen Keimen für die Monosubstanzen. Ein Synergismus war sogar dann nachweisbar, wenn die Einzelantibiotika resistent waren.

Die synergistische Wirkung dieser Kombinationen beruht auf den unterschiedlichen molekularbiologischen Angriffspunkten beider Substanzen. β -Laktamantibiotika hemmen die Zellwandsynthese bzw. zerstören die Zellwand. Dadurch wird die Penetration der Aminoglykoside in die Zelle, wo sie die Proteinsynthese hemmen, erleichtert.

Vergleichende Untersuchungen mit den Kombinationen Azlocillin und Amikacin (Tab. 8) sowie Azlocillin und Netilmicin bei *Pseudomonas aeruginosa* zeigten eine etwas bessere Wirksamkeit der zuerst erwähnten Kombination (98). In der Kombination von Netilmicin mit Azlocillin wurde in unseren Untersuchungen bei zwei der neun untersuchten Stämme ein Synergismus beobachtet. Bei den beiden Stämmen lagen die MHK-Werte der Kombination um vier bis fünf Stufen niedriger als die der Einzelsubstanzen. Bei den restlichen Stämmen wurde eine Indifferenz beobachtet.

Die Vorteile der Kombinationsbehandlung von Aminoglykosiden mit Ureidopenicillinen wurden durch zahlreiche klinische Untersuchungen bestätigt. Michalsen et al. (86) untersuchte z.B. die Kombination von Netilmicin mit Azlocillin bei Patienten mit zystischer Lungenfibrose. Bei diesen Patienten bringen chronische *Pseudomonas*-Infektionen schwierige therapeutische Probleme. Anhand seiner Ergebnisse wurde die Kombination von Netilmicin mit Azlocillin als eine wirksame therapeutische Alternative empfohlen.

Untersuchungen mit der Kombination von Mezlocillin mit Aminoglykosiden haben auch bei Enterobacteriaceae einen partiellen Synergismus bzw. Synergismus gezeigt. Soares et al. (127) untersuchten die Kombination Mezlocillin mit Sisomicin anhand der Checkerboard-Titration und beobachteten eine synergistische Wirkung dieser Kombination. Wir haben in der Kombination von Mezlocillin mit Netilmicin bei *Proteus vul-*

garis (Tab. 9), *Proteus rettgeri* (Tab. 11) und *Proteus morganii* (Tab. 10) lediglich eine Indifferenz beobachtet. Bei *Proteus vulgaris* war bei zweien der untersuchten Stämme ein eindeutiger Synergismus nachweisbar. Möglicherweise wurde in unseren Untersuchungen ein Synergismus nicht erfaßt, weil Netilmicin in einer konstanten Konzentration mit Mezlocillin kombiniert wurde.

5.4 Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen

Die Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen können einerseits das antibakterielle Spektrum erweitern, andererseits die antibakterielle Aktivität verstärken. Bei mäßig empfindlichen Erregern für die Einzelsubstanzen kommt es oft in der Kombinationstherapie zu einer additiven bzw. synergistischen Wirkungssteigerung. Die Empfehlungen der Paul Ehrlich Gesellschaft (78) für die Kombinationstherapie dieser beiden Gruppen Antibiotika betreffen vor allem lebensbedrohliche Infektionen mit unbekannten Erregern, Mischinfektionen sowie Infektionen bei Neutropenikern ohne Erregernachweis.

In unseren Untersuchungen wurden aus der Gruppe der Aminoglykoside Amikacin und Netilmicin analysiert. Diese beiden Aminoglykoside wurden mit Cefotaxim, Moxalactam, Cefoperazon und Cefoxitin kombiniert und an 33 Enterobacteriaceae getestet. Wir konnten in der überwiegenden Zahl der Kombinationen nur eine Indifferenz feststellen. In den von uns durchgeführten Untersuchungen wurde jeweils Amikacin bzw. Netilmicin in einer konstanten Konzentration mit den betreffenden Cephalosporinen kombiniert. Unsere Untersuchungen lassen sich deshalb nur beidngt mit den Ergebnissen anderer Autoren, die die Kombinationsuntersuchungen mit der Checkerboard-Titration durchführten, vergleichen. Viele Autoren berichteten über einen partiellen Synergismus bzw. Synergismus in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen (62, 104, 61, 37, 119, 92, 88). Wir haben in der Kombination von Netilmicin mit Cefoxitin und Moxalactam bei *Klebsiella pneumoniae* einen partiellen Synergismus beobachtet (Tab. 6). In der Kombination von Netilmicin mit Cefoxitin wurde sogar bei 30 % der Stämme ein Synergismus festgestellt. Kwung P. Fu et al. (25) berichteten ebenfalls über eine synergistische Wirkungssteigerung bei *Klebsiella pneumoniae*

in der Kombination von Netilmicin mit Cephalosporinen. Auffallend war aber, daß in der Kombination Netilmicin weniger aktiv ist als Gentamicin. Die MHK-Werte des Cefotaxim lagen bei *Proteus vulgaris* im sehr niedrigen Bereich 0,063 mcg/ml. In der Kombination mit Netilmicin und Amikacin konnte somit eine Wirkungssteigerung nicht gemessen werden (Tab. 9, 12). Bei *Proteus rettgeri* kam es bei 75 % der untersuchten Stämme in der Kombination von Netilmicin mit Cefoxitin und Moxalactam zu einem partiellen Synergismus.

Amikacin scheint gegenüber den anderen Aminoglykosiden in der Kombination mit Cephalosporinen wirksamer zu sein (46). Wir konnten in unseren Untersuchungen nur bei *Proteus rettgeri* in der Kombination von Amikacin mit Cefotaxim (Tab. 14) einen partiellen Synergismus bei 50 % der untersuchten Stämme feststellen. Bei den restlichen Stämmen lagen die MHK-Werte des Cefotaxim bei 0,016 mcg/ml. Eine Wirkungssteigerung um mehr als eine Stufe konnte somit gar nicht erfaßt werden. Auch in der Kombination von Amikacin bzw. Netilmicin mit Cefoperazon konnte bei 50 % der *Proteus rettgeri*-Stämme ein partieller Synergismus beobachtet werden (Tab. 11, 14). In der Kombination von Amikacin mit Moxalactam konnte bei *Proteus morganii* vereinzelt ein partieller Synergismus festgestellt werden (Tab. 13). Jones et al. (46), Gaya et al. (28) berichteten über eine synergistische Wirkungssteigerung in der Kombination von Amikacin mit Cefotaxim, Cefoperazon und Moxalactam bei Enterobacteriaceae. Die synergistische Wirkungssteigerung dieser beiden Gruppen wurde auf deren unterschiedliche molekularbiologischen Angriffspunkte zurückgeführt (69). β -Laktamantibiotika ermöglichen den Aminoglykosiden den Weg zu den Ribosomen-Rezeptoren, indem sie die Zellwandsynthese hemmen. Dadurch kommt es zu einer verstärkten Penetration der Aminoglykoside in die Zelle, wo sie die Proteinsynthese hemmen.

In der Literatur wird überwiegend von einer Wirkungssteigerung in der Kombination von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen berichtet. Die Ergebnisse sind jedoch zum Teil widersprüchlich. Neuere Untersuchungen von Markowitz et al. (84) bei 160 Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* mit den Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen ergaben einen häufigen Antagonismus besonders mit Cefoxitin. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von Jones et al. (46). Die Autoren berichten über eine synergistische Wirkungssteigerung von Ami-

kacin mit Cefotaxim bei Enterobacteriaceae. Anhand einer Bakterizidie-Kinetik haben Shah et al. (122) in der Kombination von Cefoxitin und Amikacin bei *Proteus vulgaris* einen Antagonismus festgestellt.

Wir haben in der Kombination von Cefoxitin mit Aminoglykosiden keinen Antagonismus beobachtet. Es wurde überwiegend eine Indifferenz festgestellt. In der Kombination Netilmicin mit Cefoxitin kam es bei *Klebsiella pneumoniae* und *Proteus rettgeri* zu einem partiellen Synergismus (Tab. 6, 11). Wir haben lediglich in der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim bei *Proteus rettgeri* einen partiellen Antagonismus beobachtet. Bei einem Stamm kam es sogar zu einem Anstieg des MHK-Wertes der Kombination um vier Stufen.

5.5 Bakterizidie-Kinetik von Kombinationen von β -Laktamantibiotika bei *Proteus vulgaris*

Durch die Bakterizidie-Kinetik wurde über einen zeitlichen Ablauf die antibakterielle Aktivität der Kombinationen von β -Laktamantibiotika im Vergleich zu Einzelsubstanzen beobachtet.

Die bakterizide Wirkung eines Antibiotikums wird in der Regel aufgrund der minimalen bakteriziden Konzentration beurteilt (52, 142). Die minimale bakterizide Konzentration gibt jedoch wenig Informationen über die antibakterielle Aktivität eines Chemotherapeutikums in den ersten 4 Stunden nach Applikation, die eigentlich entscheidend für die Behandlung sind. Außerdem muß darauf hingewiesen werden, daß die minimale bakterizide Konzentration nach einer unphysiologisch langen Expositionszeit von ca. 18-24 Stunden in der Regel nur als totale Abtötung bestimmt wird (40).

Ergebnisse der Checkerboard-Titration ließen sich nicht unbedingt anhand der Bakterizidie-Kinetik reproduzieren. Braveny (6) berichtete über ein antagonistisches Verhalten zwischen Cefoxitin und Azlocillin bei *Enterobacter cloacae* und *Serratia marcescens* in der Checkerboard-Titration, die in der Bakterizidie-Kinetik nicht nachvollzogen werden konnte. Es müssen deshalb bei der Bewertung einer Antibiotikakombination nicht nur die Interaktionen der beiden Substanzen, sondern auch die Interaktionen zwischen Serum und Antibiotika berücksichtigt werden. Braveny stellte fest, daß bei allen getesteten Stämmen, bei denen in

vitro ein Antagonismus aufgetreten war, dieser in Körperflüssigkeiten abgeschwächt oder völlig verschwunden war (6).

Es wurde deshalb anhand eines *Proteus vulgaris*-Stammes (191) im zeitlichen Ablauf die antibakterielle Aktivität von Mezlocillin, Azlocillin, Cefotaxim und Cefoperazon sowie deren Kombinationen untereinander untersucht (Tab. 20-21). Die minimale Hemmkonzentration dieser Kombinationen von β -Laktamantibiotika zeigte bei *Proteus vulgaris* keine Wirkungssteigerung im Vergleich zu den Einzelsubstanzen. Die minimale bakterizide Konzentration war mit der minimalen Hemmkonzentration identisch oder lag eine Stufe höher.

In all den untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika konnte in der Bakterizidie-Kinetik eine Indifferenz beobachtet werden. Als synergistische Wirkung galt eine mindestens hundertfache Reduktion der Keimzahl in der Kombination gegenüber der Einzelsubstanz (6). Als bakterizide Wirkung eines Antibiotikums galt die 99 %ige Abtötung der Keimzahl des Kontrollstammes.

Der zeitliche Ablauf der antibakteriellen Aktivität der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim wurde bei *Pseudomonas aeruginosa* von einigen Autoren untersucht. Metzger (85) stellte fest, daß sowohl in vitro als auch im Tierversuch der Antagonismus eine Sache des Dosierungsverhältnisses der Kombinationspartner ist. Dieser Effekt ist ebenfalls abhängig von der Anzahl der Bakterien und von der Induktionsgeschwindigkeit. Der Autor hat in Abhängigkeit von den Untersuchungsbedingungen mit der gleichen Kombination sowohl einen Antagonismus als auch einen Synergismus gefunden (85).

Die in den vorliegenden Untersuchungen verwandten Antibiotikakonzentrationen entsprachen jeweils der Hälfte und dem Doppelten der minimalen Hemmkonzentration dieser Substanzen. Auffallend war, daß in allen drei untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika bei einer Konzentration, die das Doppelte der MHK-Werte betrug, eine bakterizide Wirkung nach einer Latenzzeit von 2-4 Stunden eintrat. Der bakterizide Effekt der Antibiotikakombinationen hat sich von dem der Einzelsubstanzen nicht unterschieden. Hervorzuheben wäre die deutlich bessere Wirkung der Kombination Azlocillin mit Cefotaxim im Vergleich zur Wirkung von Azlocillin allein bei *Proteus vulgaris*. Eine signifikante Wirkungssteigerung konnte jedoch nicht beobachtet werden. Durch die Re-

duktion der Antibiotikakonzentrationen auf die Hälfte der MHK-Werte konnte keine bakterizide Wirkung beobachtet werden. Auch im Falle der Antibiotikakombinationen kam es zu keiner Wirkungssteigerung im Vergleich zu den Einzelantibiotika.

Es gibt viele unterschiedliche Mechanismen, die für den Synergismus bzw. Antagonismus zwischen Antibiotika verantwortlich sind. Es können deshalb unmöglich aufgrund einer einzigen in vitro-Methode alle Interaktionen, so wie sie im lebenden Organismus ablaufen, erfaßt werden (6). In vivo steht bei bakteriellen Infektionen die granulozytäre Phagozytose quantitativ weit im Vordergrund und ist der wichtigste zelluläre Abwehrmechanismus. Bei der natürlichen Abwehr gegen Infektionserreger ist neben der Phagozytose auch die Chemotaxis der Granulozyten und Monozyten von großer Bedeutung. Es ist daher verständlich, daß in Abhängigkeit von Untersuchungsbedingungen mit der gleichen Kombination unterschiedliche Effekte gesehen werden.

5.6 β -Laktamaseproduktion der Enterobacteriaceae und bei *Pseudomonas aeruginosa*

β -Laktam-Amidohydrolasen sind Enzyme, die die Hydrolyse der β -Laktamverbindung von Penicillin und Cephalosporinen katalysieren und somit zum Verlust der antibiotischen Eigenschaften der betreffenden Substanz führen. Es wurden bisher etwa 80 verschiedene β -Laktam-Aminohydrolasen oder abgekürzt β -Laktamasen identifiziert. Die einzelnen β -Laktamasen unterscheiden sich in ihrer Molekülstruktur, in ihren enzymkinetischen Eigenschaften, in ihrem Vererbungsmodus und in ihrem Hemmverhalten (91, 42).

β -Laktamasen grampositiver Keime werden in relativ großen Mengen von den Keimen gebildet und ins umgebende Medium abgegeben. Im Gegensatz dazu werden β -Laktamasen von gramnegativen Keimen in kleinen Mengen gebildet und nicht in das umgebende Medium abgegeben (141). Die β -Laktamasen gramnegativer Bakterien sind zwischen Zellmembran und Zellwand lokalisiert. β -Laktamantibiotika, die imstande sind, die Bakterienzellwand in höherem Maße und mit ausreichender Geschwindigkeit zu penetrieren, haben demnach eine bessere Wirkung auf Stämme mit β -Laktamaseproduktion.

Nach Richmond (110) und Wagner (141) beruht die Wirkung von β -Laktamantibiotika auf das Zusammenwirken von mindestens drei Faktoren:

1. Die Fähigkeit durch äußere Zellwandschichten zum Wirkungsort zu penetrieren
2. Die Unempfindlichkeit gegen die Hydrolyse durch β -Laktamasen auf dem Penetrationsweg
3. Die Fähigkeit, den Aufbau der bakteriellen Zellwand, d.h. die Peptidoglykansynthese der bakteriellen inneren Membran, zu hemmen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die β -Laktamaseproduktion durch ein chromogenes Verfahren bestimmt (95). Die Amidverbindung im β -Laktamring des Nitrocefin (chromogene Cephalosporinverbindung 87/312) wurde durch die β -Laktamasen der betreffenden Keime hydrolysiert. Die Untersuchungen wurden auf festem und flüssigem Nährboden durchgeführt. Dabei ergaben sich keine Unterschiede. Die Ergebnisse waren mit beiden Methoden identisch. Bei der überwiegenden Zahl der untersuchten Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* wurde eine β -Laktamaseproduktion nachgewiesen.

Parallel zu den durchgeführten Untersuchungen wurde der Ampicillin-Hemmhofdurchmesser dieser Keime bestimmt. Es ist bekannt, daß Ampicillin von β -Laktamase produzierenden Keimen inaktiviert wird. Demnach kann grob auf indirektem Wege auf die β -Laktamaseproduktion der Keime geschlossen werden. Anhand der Abb. 37-38 ist ersichtlich, daß eine gewisse Korrelation zwischen dem Ampicillin-Hemmhofdurchmesser und der mit dem Nitrocefin-Verfahren bestimmten β -Laktamaseaktivität existiert. Die Größe des Ampicillin-Hemmhofes erlaubt nur eine ungefähre quantitative Bestimmung der Aktivität der β -Laktamasen. Einem Ampicillin-Hemmhofdurchmesser von 0-3 mm entsprachen mäßige bis sehr hohe β -Laktamaseproduktionen. Bei geringer β -Laktamaseproduktion waren die Hemmhöfe entsprechend größer.

5.6.1 Korrelation zwischen MHK-Werten und β -Laktamaseproduktion

β -Laktamase-Stabilität bzw. -Instabilität ist von besonderer Bedeutung für die Bewertung der chemotherapeutischen Aktivität eines β -Laktamantibiotikums. Die minimale Hemmkonzentration ist ebenfalls ein Kriterium für die chemotherapeutische Wirkung eines Penicillins oder Cephalosporins. Es ist auffallend, daß bei β -Laktamase-stabilen β -Laktamanti-

biotika es solche gibt, die günstige MHK-Werte aufweisen und solche, die in dieser Beziehung weniger gut wirken (141). Es kann deshalb keine direkte Korrelation zwischen der minimalen Hemmkonzentration und der β -Laktamaseproduktion beobachtet werden. Die Wirkung eines β -Laktamantibiotikums ergibt sich aus dem Zusammenwirken vieler Faktoren.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde keine Korrelation zwischen den MHK-Werten und der β -Laktamaseproduktion beobachtet. Lediglich bei *Proteus rettgeri* könnte die Ursache der großen Schwankungen von je zwei Stämmen auf eine unterschiedliche β -Laktamaseproduktion zurückgeführt werden. Bei zwei *Proteus rettgeri*-Stämmen mit geringer β -Laktamaseproduktion lagen die MHK-Werte für Azlocillin, Mezlocillin, Cefoxitin und Cefoperazon um 4-6 Stufen niedriger als bei den restlichen zwei *Proteus rettgeri*-Stämmen mit hoher β -Laktamaseproduktion. Die Ergebnisse stimmen mit denen von Ullmann (137) überein. Ullmann fand ebenfalls keine Korrelation zwischen MHK-Werten und β -Laktamaseaktivität. Die Bestimmung der β -Laktamaseaktivität wurde mit einer quantitativen photometrischen Methode durchgeführt. Es ergibt sich auch hier das Problem der Übertragung der in vitro-Ergebnisse auf den Menschen. In vivo ist ein Antibiotikum in Kontakt mit wachsenden Bakterien, so daß in vitro-Untersuchungen, bei denen nur eine geringe Anzahl von Bakterien vorhanden ist, von denen in vivo differieren (137).

Für eine korrekte antibakterielle Therapie ist es wichtig, neben dem Antibiogramm auch die β -Laktamaseaktivität des isolierten Bakterienstammes zu kennen. Ein qualitativer einfacher Enzymnachweis, der in der Klinik breit einsetzbar ist, wäre notwendig.

Das in den vorliegenden Untersuchungen verwendete chromogene Verfahren mit Nitrocefin ist ein grober quantitativer, leicht durchführbarer Test. Er könnte wegen des geringen Zeitaufwandes routinemäßig zum Antibiogramm durchgeführt werden. Obwohl anhand der Geschwindigkeit des Farbwechsels auf eine geringe bis sehr hohe β -Laktamaseaktivität geschlossen werden kann, sollten für Untersuchungen, bei denen genauere Angaben über die β -Laktamaseproduktion notwendig sind, empfindlichere Tests verwendet werden. Eine Reihe von spektrophotometrischen Methoden (96, 87, 114, 95) erlauben eine genaue Bestimmung der β -Laktamaseaktivität.

5.6.2 β -Laktamase-Inhibitoren

Sykes (136) klassifizierte die β -Laktamasen in Anlehnung an deren Vererbungsmodus in:

1. Chromosomal determinierte β -Laktamasen
2. β -Laktamasen, die durch ein extrachromosomales Gen, einen sogenannten R-Faktor, übertragen werden.

Bei gramnegativen Bakterien findet man chromosomal vererbare β -Laktamasen mit Cephalosporinaseaktivität. Besonders bei gramnegativen Bakterien ist die R-Faktor-bedingte Resistenz von großer klinischer Bedeutung. Es wird deshalb ständig nach Möglichkeiten zur Überwindung dieser Form von Resistenz gesucht. In den letzten Jahren wurden Substanzen, wie 6- β -Bromopenicillansäure und Olivansäuren sowie die Clavulansäure entdeckt. Diese Substanzen haben selbst keine nennenswerte eigene antimikrobielle Aktivität, aber eine bemerkenswerte Hemmpotenz gegenüber einer Vielzahl von β -Laktamasen (91). In Kombination mit β -Laktamantibiotika wirken diese Substanzen synergistisch gegen resistente, β -Laktamase produzierende Erreger.

5.7 β -Laktamantibiotikakombinationen in der Granuloma Pouch

5.7.1 Mikrobiologische, biochemische und histologische Charakteristika des Granuloma-Pouch-Modells

H. Selye (120) beschrieb im Jahre 1952 erstmalig das Granuloma Pouch-Modell. Anhand dieses Modells untersuchte der Autor damals die anti-phlogistische Wirkung der Cortikoide.

Das Granuloma Pouch-Modell wurde von Dalhoff et al. (12, 13) an Ratten unter Verwendung biochemischer, haematologischer, mikrobiologischer sowie histologischer Methoden untersucht. Nachdem 20 ml Luft subcutan zwischen den Schultern einer Ratte injiziert wurden, erfolgte die Injektion eines Irritans in diese Höhle (Abb. 6). Sieben Tage später war die Pouch mit ca. 5-7 ml eines haemorrhagischen Exsudates gefüllt. Histologisch besaß die Pouch Merkmale einer starken granulomatösen Entzündung (Abb. 5). Die biochemischen Untersuchungen dieses Exsudates bei infizierten Pouchen ergaben eine Erhöhung des Laktat-Dehydro-

genase-Spiegels sowie der α_2 und δ Globulin-Fraktion im Vergleich zu nicht infizierten Kontrollen. Es kam zu keiner Generalisation der Infektion.

Die Granuloma Pouch kann somit als eine lokale, chronische Entzündung, die durch Schaffung einer Körperhöhle hervorgerufen wurde, charakterisiert werden (12).

Diese Untersuchungen von Dalhoff et al. wurden mit E. coli-Stämmen durchgeführt. Dabei wurden die Wachstumscharakteristika dieser E. coli-Stämme untersucht. Auffallend war, daß das Wachstumsverhalten dieser Stämme in vitro in Humanserum, Rattenserum sowie Pouch-Exsudat durch in vivo infizierte Pouchen widerspiegelt wurde. Die Serumempfindlichkeit dieser Stämme entsprach den in vivo-Wachstumsraten. "Serum-resistente Stämme wuchsen in vivo sehr gut im Pouch-Exsudat, dagegen Serum-empfindliche Stämme von den Pouchen eliminiert wurden" (13). Es wurde angenommen, daß die Bestandteile der zellulären und humoralen Körperabwehr lokal verbraucht oder inaktiviert werden, da die Elimination dieser Stämme von der Infektionsdosis abhängt. Aufgrund histologischer, klinisch-chemischer sowie mikrobiologischer Daten stellt die Granuloma Pouch eine lokale bakterielle Infektion in einer abwehrgeschwächten, entzündeten Körperhöhle dar.

Es ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung der biochemischen Daten des Pouch-Exsudates mit denen von Wundexsudaten des Menschen. Deshalb kann das Granuloma Pouch-Modell die klinische Situation einer lokalen Entzündung, so wie sie in Wundhöhlen nach Abszeß oder Organexzisionen entsteht, widerspiegeln.

Dieses Modell läßt sich pharmakokinetisch als tiefes Kompartment kennzeichnen. Es bestehen über eine relativ lange Zeitspanne relativ hohe Antibiotikaspiegel in der Pouch. Durch die spezifischen Experimentalbedingungen kann individuell ein zeitabhängiger Bakterien clearance-Verlauf auch während eines mehrtägigen Versuchszeitraums ermittelt werden.

Die Granuloma Pouch bleibt trotzdem ein tierexperimentelles Modell mit all seinen Besonderheiten und Grenzen (12).

5.7.2 Verhalten der β -Laktamantibiotikakombinationen in infizierten Pouchen

Die antibakterielle Wirkung von Mezlocillin, Cefotaxim und Cefoperazon und deren Kombinationen wurden am Granuloma Pouch-Modell untersucht. Die durchgeführten Untersuchungen mit Kombinationen von β -Laktamantibiotika sollten den Kombinationseffekt dieser Antibiotika in den infizierten Pouchen sowie deren Korrelation mit der β -Laktamaseinduktion feststellen. Diese Untersuchungen waren auch ein Teil der von Dalhoff et al. durchgeführten komplexen Untersuchungen zur Erforschung dieses tierexperimentellen Modells (12, 13).

Der Kombinationseffekt von β -Laktamantibiotika wurde an vier *Proteus vulgaris*-Stämmen 191, 67, 276, 550 mit unterschiedlicher β -Laktamaseproduktion untersucht. *Proteus vulgaris* 550 und 191 zeigten eine hohe β -Laktamaseproduktion. Bei den Stämmen 276 und 67 war nur eine geringe β -Laktamaseaktivität nachweisbar. Aufgrund der speziellen Selektion dieser Stämme kann von der antibakteriellen Wirkung dieser Antibiotikakombinationen bei den untersuchten Stämmen nicht auf die allgemeine Wirksamkeit dieser Antibiotika geschlossen werden. Mit anderen mikrobiologischen Untersuchungsmethoden konnte bei diesen Antibiotikakombinationen weder ein Synergismus noch ein Antagonismus beobachtet werden.

In der Kombination von Mezlocillin mit Cefoperazon kam es bei *Proteus vulgaris* 550 und 191 zu keiner Wirkungssteigerung im Vergleich zur Aktivität des Mezlocillin und Cefoperazon allein (Tab. 23, 25). Die mangelnde Wirkungssteigerung der Kombination wurde auf die hohe β -Laktamaseproduktion der beiden Stämme bei gleichzeitiger Wirkung von Mezlocillin und Cefoperazon zurückgeführt. Die beiden anderen *Proteus vulgaris*-Stämme 276 und 67 zeigten nur eine geringe β -Laktamaseaktivität. Bei diesen beiden Stämmen konnte eine gute Wirksamkeit der Kombination von Acylureidopenicillinen mit Cephalosporinen beobachtet werden. Die intrazelluläre β -Laktamaseproduktion dieser Stämme wurde von Dalhoff (14) mit einer Ultraschallbehandlung der Kulturen bestimmt (Abb. 51). Weiterführende Untersuchungen (15) zeigten eine direkte Korrelation zwischen der Konzentration der Antibiotika in der Pouch und deren antibakterielle Wirkung. Kennzeichnend war eine unterschiedliche β -Laktamaseproduktion dieser vier *Proteus vulgaris*-Stämme.

Abb. 51 zeigt die Abhängigkeit der antibakteriellen Wirkung von der β -Laktamaseinduktion. Die gleichzeitige Gabe von Mezlocillin und Cefoperazon bei *Proteus vulgaris* 550 führte zu einer fast vollständigen Inaktivierung dieser beiden Substanzen. Im Gegensatz dazu erbrachte die gleichzeitige Gabe von Mezlocillin und Cefotaxim eine synergistische Wirkungssteigerung der Kombination bei *Proteus vulgaris* 550. Eine Erklärung für diese synergistische Wirkungssteigerung wäre, daß Cefotaxim das Mezlocillin von der Inaktivierung durch β -Laktamasen schützt.

intrac.
 β -lactamase
 [units/ $\log_{10}$ CFU $\cdot$ ml $^{-1}$]

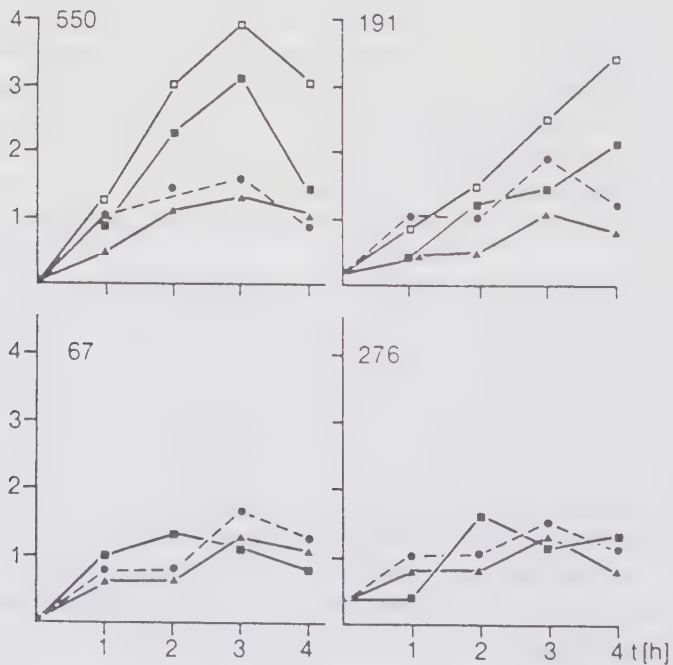


Abb. 51: Intrazelluläre β -Laktamasekonzentrationen induziert durch Mezlocillin 1 mg/l (o), Cefotaxim 0,005 mg/l (□), Cefoperazon 1 mg/l (Δ), Cefoperazon und Mezlocillin (◇) (nach Dalhoff 14).

Cefotaxim ist gekennzeichnet durch eine hohe Stabilität gegen viele β -Laktamasen (26). *Proteus vulgaris* 276 und 67 bilden nur eine geringe Menge β -Laktamasen. In der Kombination von Mezlocillin mit Cefotaxim kam es zu keiner weiteren Wirkungssteigerung im Vergleich zu den Einzelsubstanzen (Tab. 24, 26). Insgesamt fiel es bei allen vier *Proteus vulgaris*-Stämmen auf, daß die Keimzahl in der Kombination von Mezlocillin mit Cefotaxim am 5. Therapietag bei ca. 10^3 Keimen/ml lag und demnach besser als die Kombination von Mezlocillin mit Cefoperazon wirkte.

Viele Autoren haben versucht, die Interaktionen zwischen zwei β -Laktamantibiotika zu erklären. Sanders et al. (117) erklären den Antagonismus in der Kombination von Cefoxitin und Cefamandol mit der β -Laktamaseinduktion des Cefoxitin. Sabath et al. (116) erklären den Synergismus in der Kombination von β -Laktamantibiotika durch die Inaktivierung der β -Laktamasen durch ein Antibiotikum. Somit wird das zweite Antibiotikum von β -Laktamasen geschützt und kann seine Wirkung voll entfalten. Andere Autoren versuchten, den Kombinationseffekt mit Hilfe der penicillinbindenden Proteine zu erklären.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Anhand einer Reihe von in vitro- und in vivo-Untersuchungen wurde die Wirksamkeit von Antibiotikakombinationen an randomisiert ausgewählten Enterobacteriaceae und *Pseudomonas aeruginosa* untersucht. Die Gruppe der Enterobacteriaceae umfaßte 10 *Klebsiella pneumoniae*-, 10 *Proteus vulgaris*-, 9 *Proteus morganii*- und 4 *Proteus rettgeri*-Stämme.

In vitro wurden die experimentellen Untersuchungen mit Hilfe des Mikrodilutionsverfahrens durchgeführt. Die antibakterielle Aktivität der Antibiotikakombinationen im zeitlichen Ablauf bei *Proteus vulgaris* wurde anhand der Bakterizidie-Kinetik bestimmt.

Die Kombinationen von β -Laktamantibiotika ergaben überwiegend eine indifferente Wirkung. In der Kombination Azlocillin und Cefotaxim bei *Pseudomonas aeruginosa* sowie in der Kombination Mezlocillin und Cefotaxim bei *Proteus rettgeri* wurde ein partieller Synergismus festgestellt. Antagonistische Effekte wurden nicht gesehen.

In der Kombination von Acylureidopenicillinen mit Aminoglykosiden kam es in der Kombination von Amikacin mit Azlocillin bei *Pseudomonas aeruginosa* zu einem partiellen Synergismus. Ansonsten wurden nur indifferente Effekte registriert. Ein Antagonismus war nicht zu verzeichnen.

Die Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen ergaben in den Kombinationen von Netilmicin mit Cefoxitin und Moxalactam bei *Klebsiella pneumoniae* und *Proteus rettgeri* einen partiellen Synergismus. Bei *Proteus rettgeri* fand sich in der Kombination von Netilmicin mit Cefotaxim ein partieller Antagonismus. Bei den restlichen Kombinationen waren nur indifferente Effekte zu verzeichnen.

In den bakterienkinetischen Untersuchungen konnten keine Wirkungsveränderungen in der Kombination der β -Laktamantibiotika gegenüber der Wirkung der Einzelsubstanzen beobachtet werden.

Mit Hilfe des Nitrocefin-Verfahrens wurde die β -Laktamaseproduktion der einzelnen Keime bestimmt. Dieses Verfahren ist ein grob quantitativer leicht durchführbarer Test, der wegen des geringen Zeitaufwandes in den mikrobiologischen Laboratorien routinemäßig zum Antibiotogramm durchgeführt werden könnte.

Die vorliegenden Untersuchungen können keine Korrelation zwischen den MHK-Werten und der β -Laktamaseproduktion bestätigen.

Die in vivo-Untersuchungen mit Kombinationen von β -Laktamantibiotika sollten den Kombinationseffekt dieser Antibiotika in den infizierten Pou-chen sowie deren Korrelation mit der β -Laktamaseinduktion in einem Modell einer lokalen bakteriellen Infektion feststellen. Dieses Modell besitzt histologisch die Merkmale einer starken granulomatösen Entzündung. Die Untersuchungen wurden an vier *Proteus vulgaris*-Stämmen mit unterschiedlicher β -Laktamaseproduktion durchgeführt. Es wurden überwiegend indifferente Effekte in der Kombination von β -Laktamantibiotika beobachtet. Nur in der Kombination von Mezlocillin und Cefotaxim konnte bei *Proteus vulgaris* 550 ein Synergismus bemerkt werden. Die bessere Wirksamkeit der Kombination mit Cefotaxim wurde auf dessen höhere Stabilität gegen β -Laktamasen zurückgeführt.

Die Ergebnisse der in vitro-Methoden, sowohl das Dilutionsverfahren wie auch die Bakterienkinetik, stehen in guter Übereinstimmung zu den Ergebnissen des in vivo-Modells. Für den Synergismus oder Antagonismus zwischen Antibiotika sind verschiedene Mechanismen verantwortlich. In vitro-Methoden können kaum alle Interaktionen, wie sie im Organismus ablaufen, erfassen. Deshalb ist es notwendig, daß jede Kombinationstherapie hinsichtlich ihrer Wirkungscharakteristik zunächst in vitro und dann an Tieren geprüft wird, bevor sie für die klinische Behandlung empfohlen wird.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ABRAHAM, E.P., G.G.F. NEWTON
The structure of cephalosporin C. *Biochem. J.* 161, 337-393 (1979)
- 2 ACAR, J.F.
Synergy between antimicrobial agents: Introductory remarks. *Infection* 6 (Suppl. 1), 5-8 (1978)
- 3 ANDREWS, J.M., K.A. BEDFORD, R. WISE, A.P. GILLET
Azlocillin and Ticarcillin in Combination with Cefoxitin and Cefotaxime (HR 756) an in vitro study.
In J.D. Nelson and C. Grassi (ed.): Current chemotherapy and infectious disease. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 150-152 (1979)
- 4 BATCHELOR, F.R., F.P. DOYLE, J.W.C. NAYLER, G.N. ROLINSON
Synthesis of penicillin, 6-amino-penicillanic acid in penicillin fermentations. *Nature* 183, 257-258 (1959)
- 5 BLUMBERG, P.M., J.L. STROMINGER
Interactions of penicillin with bacterial cell: penicillin-binding proteins and penicillin-sensitive enzymes. *Bacteriological Review* 38, 291-335 (1974)
- 6 BRAVENY, I.
Antibakterielle Wirkung der Kombinationen von Betalaktam-Antibiotika. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, 3-14
- 7 BRAVENY, I., K. MACHKA, C. GRASSL
Combination Effect of Cefoxitin and Azlocillin in Vitro and in Serum of Volunteers. Current Chemotherapy and Immunotherapy, Vol. I. Proceedings of the 12th International Congress of Chemotherapy, Florence 1981, 239-240
- 8 BRAVENY, I., J. VOECKL, K. MACHKA
Antimicrobial activity of Netilmicin in comparison with Gentamicin, Sisomicin, Tobramycin and Amikacin and their resistance patterns. *Arzneim. Forsch.* 30 (I) 3, 491-495 (1980)
- 9 BROTZU, G.
Ricerca su di un nuovo antibiotico. *Lav. 1st. Jg. Univ., Cagliari* 1948
- 10 CURTIS, N.A.C., D. ORR, G.W. ROSS, M.G. BOULTON
Affinities of Penicillins and Cephalosporins for the Penicillin-Binding Proteins of *Escherichia coli* K-12 and Their Antibacterial Activity. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 16, 533-539 (1979)
- 11 DALHOFF, A.
Fünfzig Jahre Penicilline. Eine Übersicht über Struktur-Wirkungsbeziehungen der Beta-Laktamantibiotika und ihre mikrobiologische sowie klinische Relevanz. *Infection* 7, 294-302 (1979)

- 12 DALHOFF, A., G. FRANK, G. LUCKHAUS
The Granuloma Pouch: An in vivo Model for Pharmacokinetic and Chemotherapeutic Investigations. I. Biochemical and histological Characterization. *Infection* 10, 354-360 (1982)
- 13 DALHOFF, A., G. FRANK, G. LUCKHAUS
The Granuloma Pouch: An in vivo Model for Pharmacokinetic and Chemotherapeutic Investigations. II. Microbiological Characterisation. *Infection* 11, Nr. 1, 41-46 (1983)
- 14 DALHOFF, A., A.E. GEHL, H. LODE
Kinetic in vitro Studies of Antibacterial Effects of the Combination of New Penicillins and Cephalosporins against *Proteus vulgaris*. *Chemotherapy* 28, 381-389 (1982)
- 15 DALHOFF, A., A.E. GEHL, W. GAU, H. LODE
Pharmacokinetics and Antibacterial Efficacy in vivo of Beta-Lactam Combinations against *Proteus vulgaris*. *Chemotherapy* 28, 444-453 (1982)
- 16 DAVIES, J., D. SMITH
Plasmid-determined Resistance to Antimicrobial Agents. *Am. Rev. Microbiol.* 32, 469-518 (1978)
- 17 DASCHNER, F.
Synergistic Effects of Azlocillin and Mezlocillin with the Aminoglycosides in Nosocomial Infections. *Infection* 7 (Suppl. 3), 250-251
- 18 DASCHNER, F.
Antibiotikaprophylaxe - sinnvoll oder sinnlos? *Dtsch. med. Wschr.* 106, 1150-1153 (1981)
- 19 DE MARIA, A., S. ALVAREZ, J.O. KLEIN, W.R. MC CABE
In Vitro Studies of Moxalactam (LY 127935), a New Beta-Lactam Antibiotic with Significant Activity against Gram-Negative Bacteria. *Infection* 8 (Suppl. 3), 261-266 (1980)
- 20 DREWS, J., R.D. NOLAN
Neue Konzepte in der antibakteriellen Chemotherapie. 14. Symposium der Dtsch. Ges. für Fortschr. auf dem Gebiet der Inn. Medizin. Freiburg i. Br. 1977. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- 21 EHRLICH, P.
Chemotherapeutics: Scientific Principles, Methods and Results. *Lancet* 2, 445-447 (1913)
- 22 FASS, R.J.
Comparative In Vitro Activities of Azlocillin-Cefotaxime and Azlocillin-Tobramycin Combinations Against Blood and Multidrug-Resistant Bacterial Isolates. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 22, 167-169 (1982)
- 23 FASS, R.J.
In Vitro Activity of LY 127935. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 16, 503-509 (1979)

- 24 FLEMING, A.
On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Brit. J. exp. Path.* 10, 226-236 (1929)
- 25 FU, P.K., H.C. NEU
In Vitro Synergistic Effect of Netilmicin, a New Aminoglykoside Antibiotic. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 10, 511-518 (1976)
- 26 FU, P., H.C. NEU
Beta-lactamase stability of HR 756, a novel cephalosporin. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 14, 322-326 (1978)
- 27 GAVAN, T.L., A.L. BARREY
Microdilution Test Procedures. In *Manuel of Clinical Microbiology*. Third Edition, Ch. 43, 459-462, edited by Edwin H. Lennette, American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1980
- 28 GAYA, H., T. SACKS, A. GOOD, C. UPTON, C. GLICKSMAN
Synergy between some newer aminoglycoside and β -lactam antibiotics. 11th ICC and 19th ICAAC, Boston, Mass., 1.-5. Oct. 1979. Washington: Americ. Soc. Microbiol., 1979, Abstract No. 588
- 29 GEHL, A.E., A. DALHOFF, G. DZWILLO, H. LODE
Microbiological In Vitro and Animal Studies with Combinations of New β -Lactam Antibiotics. *Current Chemotherapy and Immunotherapy*. Vol. I. Proceedings of the 12th International Congress of Chemotherapy, Florence 1981, 232-235
- 30 GIAMARELLOU, H., G.L. DAIKOS, K. KANELAKAPOULOU, G.K. DAIKOS
In Vitro Antagonistic Activity of Azlocillin with Cefoxitin Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Chemotherapy and Immunotherapy*. Proceedings of the 12th International Congress of Chemotherapy, Florence 1981, 237-238
- 31 GRANINGER, W., S. BREYER, H. PICHLER
Mikrobiologische und klinische Erfahrungen mit Cefoxitin. *Infection* 7 (Suppl. 1), 99-102 (1979)
- 32 GREENWOOD, D., F. O'GRADY
Potent Combinations of β -Lactam Antibiotics using the β -Lactamase Inhibition Principle. *Chemotherapy* 21, 330-341 (1975)
- 33 GRIFFITH, R.S.
Ten years of Cephalosporins. *Adv. Clin. Pharmac.* 8, 6-18 (1974)
- 34 GRIMM, H.
Vergleichende Testungen der Wirksamkeit der neuen β -Lactam- und Aminoglykosid-Antibiotika. *Klinikerzt* 8, 185-189 (1979)
- 35 GRIMM, H.
Bakteriologische Untersuchungen zum Antagonismus zwischen Acylureidopenicillinen und Cephalosporinen. *Arzneim. Forsch.* 30 (I), 999-1000 (1980)

- 36 GRIMM, H.
Bakteriologische in vitro-Untersuchungen zur Kombination von Betalaktam-Antibiotika. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft. Frankfurt 1981, 26-34
- 37 HALLANDER, H.O., K. DORNBUSCH, L. GEZELIUS, K. JACOBSON, I. KARLSSON
Synergism Between Aminoglycosides and Cephalosporins with Antipseudomonal Activity: Interaction Index and Killing Curve Method. Antimicrob. Ag. Chemother. 22, 743-752 (1982)
- 38 HARWICK, H.J., P. WEISS, F.R. FEKETY, Jr.
Application of microtitration techniques to bacteriostatic and bactericidal antibiotic susceptibility testing. J. Lab. Clin. Med. 72, 511-516 (1968)
- 39 HELM, E.B., P. SCHACHT, P.M. SHAH, W. STILLE
First clinical experiences with a new ureido - penicillin (Bay e 6905). 15th ICAAC, Washington 1975, Abstr. 331
- 40 HELM, E., P.M. SHAH, W. STILLE
Untersuchungen zum zeitlichen Ablauf der Bakterizidie von Genatamycin gegenüber E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Ps. pyocyanea und Staphylococcus aureus. Med. Welt 25, 644-648 (1974)
- 41 HEYMES, R., A. LUTZ, E. SCHRINNER
Experimental Evaluation of HR 756, a New Cephalosporin Derivative. Proceedings of the 10th International Congress of Chemotherapy. Vol. II. Zürich 1977, 823-824
- 42 JACK, G.W., M.H. RICHMOND
A Comparative Study of Eight Distinct β -Lactamases Synthesized by Gram-negative Bacteria. J. of Gen. Microbiology 61, 43-61 (1970)
- 43 JACOB, C.V., J. KLEINEMAN
Comparison of Drug Sensitivity Testing, with Microdilution Quantitative Minimum Inhibitory Concentration and the Autobac I System. Journal of Clin. Microbiology 11, 465-469 (1980)
- 44 JAWETZ, E., J.B. GUMISON, V.R. COLEMAN, H.C. KEMPE
A laboratory test for bacterial sensitivity to combinations of antibiotics. Amer. J. clin. Path. 25, 1016 (1955)
- 45 JONES, R.N., P.C. FUCHS, A.L. BARRY, T.L. GAVAN, E.H. GERLACH, H.M. SOMMERS
Antimicrobial Activity and Spectrum of Cefoperazone Against Recent Clinical Isolates. Clin. Therapeutics 3 (special issue), 14-23 (1980)
- 46 JONES, R.N., R.R. PACKER
Antimicrobial Activity of Amikacin Combinations Against Enterobacteriaceae Moderately Susceptible to Third-Generation Cephalosporins. Antimicrob. Ag. Chemother. 22, 985-989 (1982)

- 47 JORGENSEN, J.H., J.C. LEE, P.M. JONES
Chemically Defined Antimicrobial Susceptibility Test Medium
for *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Ag. Chemother. 11,
415-419 (1977)
- 48 KAMMER, W., B. NEUHAUS
In vitro Antagonismus von Cefoxitin und Azlocillin im Agardif-
fusionstest. Öff. Gesundheitswesen 40, 621 (1978)
- 49 KEMMERICH, B., H. LODE, G. BELMEGA, T. JENDROSCHKE, P.
KOEPE, J. WAGNER
Cefoperazon-Cefotaxim. Klinische und pharmakokinetische Unter-
suchungen mit zwei neuen Cephalosporinen. Verh. dt. Ges. inn.
Med. 86, 1189-1193 (1980)
- 50 KIRBY, W.M.M.
The Microbiology of Cefoperazone. XVth International Congress
of Internal Medicine Hamburg 1980, 1-9
- 51 KLASTERSKY, J.
Prediction and Significance of Synergy between Antibiotics Used
for Treatment for Gram-Negative Sepsis. Infection 8 (Suppl. 1),
45-48 (1980)
- 52 KLEIN, P.
Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laborato-
riumspraxis. Verlag Springer, Berlin Göttingen Heidelberg 1957
- 53 KNOTHE, H.
Antimikrobielle Eigenschaften neuerer Chemotherapeutika. Mo-
natskurse für die ärztliche Fortbildung 29 Nr. 7, 241-247 (1979)
- 54 KNOTHE, H.
Die antibakterielle Aktivität von Mezlocillin und Azlocillin. Arz-
neim. Forsch. 29 (II), Nr. 12a, 1916-1920 (1979)
- 55 KNOTHE, H.
Sensitivity testing and synergy. J. of Antimicrob. Chemother. 6
(Suppl. A), 31-35 (1980)
- 56 KNOTHE, H., G. WITT
Über Antibiotika-Kombinationen. Dt. med. Wschr. 83, 829-834
(1958)
- 57 KÖNIG, H.B., K.G. METZGER, H.A. OFFE, W. SCHROCK
New acylureido methyl penicillins, active against gramnegative
bacteria. 14th ICAAC San Francisco 1974, Abstract 372
- 58 KRAEMANN, C., G. MOHR
Zur In-vitro-Wirksamkeit von Cefoxitin gegen Enterobacteria-
ceae und Staphylococcus aureus. Arzneim. Forsch. 27, 2029-2031
(1977)
- 59 KUCK, N.A., R.T. TESTA, M. FORBES
In Vitro and In Vivo Antibacterial Effects of Combinations of
Beta-Lactam Antibiotics. Antimicrob. Ag. Chemother. 19, 634-
638 (1981)

- 60 KURIEN, S., W. LORIAN
Discrepancies Between Results Obtained by Agar and Broth Techniques in Testing of Drug Combinations. J. of Clin. Microbiology 11, 527-529 (1980)
- 61 KURTZ, T.O., D.J. WINSTON, D.A. BRUCKNER, W.J. MARTIN
Comparative In Vitro Synergistic Activity of New Beta-Lactam Antimicrobial Agents and Amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. Antimicrob. Ag. Chemother. 20, 239-243 (1981)
- 62 LAETHEM VAN, Y., H. LAGAST, J. KLATERSKY
Serum Bactericidal Activity of Ceftazidime and Cefoperazone Alone or in Combination with Amikacin Against *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Ag. Chemother. 23, 435-439 (1983)
- 63 LANG, E.
Antibiotikakombinationen in der Klinik. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, 79-85
- 64 LAURI D., M.D. THRUPP
Susceptibility Testing in Liquid Media. In Antibiotics in Laboratory Medicine Ch. 4, 73-113, edited by Victor Lorian, Bronx, New York 1980
- 65 LEGLER, F., O. PREISSLER
Rationelle Antibiotikatherapie. Therapiewoche 32, 3369-3378 (1982)
- 66 LEGLER, F., O. PREISSLER
Antibiotikatherapie im klinischen Alltag. Der Klinikarzt 11, 807-814 (1982)
- 67 LINZENMEIER, G., E. ROSENTHAL
Zur In-vitro-Testung der neueren Cephalosporine. Infection 7 (Suppl. 2), 225-227 (1979)
- 68 LODE, H.
Untersuchungen zur enteralen Resorption von β -Lactamantibiotika. Habilitationsschrift, Berlin 1977
- 69 LODE, H.
Aminoglykosid-Antibiotika im aktuellen Vergleich. Schattauer Verlag, Stuttgart 1979
- 70 LODE, H.
Probleminfektionen. Der Krankenhausarzt 53, 685-689 (1980)
- 71 LODE, H.
Therapie der Sepsis. Hyg. und Med. 6, 231-238 (1979)
- 72 LODE, H., A. DALHOFF, P. NAUMANN
Die Wirkung von Cephalotin, Gentamycin und ihrer Kombinationen gegen *Bacterium Proteus mirabilis*. Int. J. clin. Pharmacol. 6, Nr. 4, 346-353 (1972)

- 73 LODE, H., K. GRUNERT, P. KOEPPE, H. LANGMAACK
Pharmakokinetik und klinische Erfahrungen mit Amikacin.
Dt. med. Wschr. 101, Nr. 36, 1312-1317 (1976)
- 74 LODE, H., B. HAMPEL
Vermeidbare Arzneimittelschäden: Antimikrobielle Antibiotika
Medica 2, Nr. 4, 239-251 (1981)
- 75 LODE, H.
Combination therapy with β -lactam antibiotics. J. of Antimicrobial Chemotherapy 12, Nr. 3, 200-202 (1983)
- 76 LODE, H., U. NIESTRATH, P. KOEPPE, H. LANGMAACK
Pharmakokinetik zweier neuer semi-synthetischer Acylureido-penicilline: Azlocillin und Mezlocillin. In Berichte über das Internationale Symposium Acylureido-Penicilline (Spitzzy), Stuttgart 1978, 125-128, Verlag für angewandte Wissenschaften München 1978
- 77 LODE, H., U. NIESTRATH, P. KOEPPE, H. LANGMAACK
Azlocillin und Mezlocillin: Zwei neue semisynthetische Acylureidopenicilline. Infection 5, 163-169 (1977)
- 78 LODE, H., W. SIEGENTHALER
Klinische Antibiotika-Therapie. Empfehlungen einer interdisziplinären Arbeitsgruppe der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie. Dtsch. Ärzteblatt 78, 501 (1981)
- 79 LUBOSHITZKY, R., T. SACKS, J. MICHEL
Bacterial effect of combinations of antibiotics on Klebsiella-Enterobacter-Serratia. Chemotherapy 19, 354-369 (1973)
- 80 LÜTHY, R.
Basis for an Adequate Dosage of Aminoglycoside Antibiotics. Infection 8 (Suppl. 1), 58-61 (1980)
- 81 MACHKA, K., J. FRANZ, I. BRAVENY
In-Vitro-Eigenschaften von Moxalactam (LY 127935). Infection 8, 202-209 (1980)
- 82 MAC LOWRY, J.D., M.J. JOUNG, S.T. SELEPAK, H.H. MARSH
A semiautomatic microtechnique for serial dilution antimicrobial sensitivity testing in the clinical laboratory. Int. J. Clin. Pharmacol. 3, 70-72 (1970)
- 83 MALOTTKE, R.
Bakteriologische Untersuchungen mit einem neuen halbsynthetischen Oxy-Beta-Laktam-Antibiotikum LY 127935. Infection 8, 43-47 (1980)
- 84 MARKOWITZ, S.M., D.J. SIBILLA
In vitro Activity of Cefoxitin, Alone and in Combination with Aminoglycoside or Other β -Lactam Antibiotics against Common Gram-Negative Pathogens. Chemotherapy 29, 89-98 (1983)

- 85 METZGER, K.
Antagonismus zwischen Azlocillin und Cefoxitin. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, W. Zuckschwerdt Verlag München, 67-73
- 86 MICHALSEN, H., T. BERGAN
Treatment of respiratory tract infections in cystic fibrosis with azlocillin alone and in combination with an aminoglycoside. International Symposium Acylureido-Penicillins, Vienna 1979, Excerpta Medica 1980, 117-122
- 87 MINAMI, S., A. YOTSUJI, M. INOUE, S. MITSUHASHI
Induction of β -Lactamase by Various β -Lactam Antibiotics in *Enterobacter cloacae*. Antimicrob. Ag. Chemother. 18, 382-385 (1980)
- 88 MINTZ, L., W.L. DREW
Comparative Synergistic Activity of Cefoperazone, Cefotaxime, Moxalactam, and Carbenicillin, Combined with Tobramycin, Against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Ag. Chemother. 19, 332-334 (1981)
- 89 MOELLERING, R.C. Jr.
Antimicrobial synergism - an elusive concept. J. Infect. Dis. 137, 155-160 (1978)
- 90 MOUTON, R.P., G.P.A. BONGAERTS, M. van GESTEL
Comparison of Activity and Beta-Lactamase Stability of Cefotaxime with Those of Six Other Cephalosporins. Antimicrob. Ag. Chemother. 16, 757-760 (1979)
- 91 MÜNCH, R.
Die β -Laktamase-Inhibitoren und ihre klinische Bedeutung. Infection 9, 114-119 (1981)
- 92 MURRAY, P.R.
Activity of Cefotaxime-Aminoglycoside Combinations Against Aminoglycoside-Resistant *Pseudomonas*. Antimicrob. Ag. Chemother. 17, 474-476 (1980)
- 93 NAUMANN, P., H. ROSIN
Fortschritte in der antibakteriellen Chemotherapie. Internist 19, 664-671 (1978)
- 94 NAUMANN, P., H. ROSIN
Neue Antibiotika-Eigenschaften und Grundlagen ihrer Anwendung. Internistische Welt 4, 129-135 (1979)
- 95 NEU, H.C.
Antibiotic Inactivating Enzymes and Bacterial Resistance. In Antibiotics in Laboratory Medicine, by Victor Lorian, Williams & Wilkins, Baltimore/London 1980, Chapter 16, 454-471
- 96 NEU, H.C.
 β -Lactamase Production by *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Ag. Chemother. 534-538 (1970), Proceedings of the Tenth ICAAC

- 97 NEU, H.C., N. ASWAPOKEE, P. ASWAPOKEE, K.P. FU
HR 756, a New Cephalosporin Active Against Gram-Positive and Gram-Negative Aerobic and Anaerobic Bacteria. Antimicrob. Ag. Chemother. 15, 273-281 (1979)
- 98 NEU, H.C., K.P. FU
Synergy of Azlocillin and Mezlocillin Combined With Aminoglycoside Antibiotics and Cephalosporins. Antimicrob. Ag. Chemother. 3, 813-819 (1978)
- 99 NEUHAUS, B.
Durch Cephalosporine induzierbare Resistenz gegen Penicillinabkömmlinge bei Enterobacteriaceae und Pseudomonaceae. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, Verlag München w. Zuckschwerdt, 15-25
- 100 NEUHAUS, B., W. KAMMER, D. FÖRSTER
Resistance to Penicillin Derivatives Inducible by Cephalosporins in Enterobacteriaceae and Pseudomonaceae. Infection 9, 12-17 (1981)
- 101 NISHIDA, M., T. MURAKANA
Exudate Levels and Bactericidal Activity of Cefazolin in a New Local Infection System Using Rat Granuloma Pouches. Antimicrob. Ag. Chemother. 11, 1042-1048 (1977)
- 102 NORDEN, C.W., H. WENTZEL, E. KELETI
Comparison of Techniques for Measurement of in Vitro Antibiotic Synergism. J. Infect. Dis. 140, 629-633 (1979)
- 103 ONISHI, H., D. DAOUST, S. ZIMMERMANN, D. HENDLIN, E. STAPHLEY
Cefoxitin, a semisynthetic antibiotic: resistant to beta-lactamase inactivation. Antimicrob. Agents Chemother. 5, 38-48 (1974)
- 104 PEREA, E.J., M.C. NOGALES, J. AZNAR, F. MARTIN, M.G. IGLESIAS
Synergy between Cefotaxime, Cefsulodin, Azlocillin, Mezlocillin and Aminoglycosides against Carbenicillin Resistant or Sensitive Pseudomonas aeruginosa. 11th ICC and 19th ICAAC, Boston, Mass. 1.-5. Oct. 1979. Washington. Amer. Soc. Microbiol., 1979. Abstract No. 883
- 105 PERRETT, C.J.
Jodometric assay of penicillinase. Nature 174, 1012-1013 (1954) London
- 106 PERRYMAN, F., D.J. FLOURNOY, S.M. HUSSAIN QADRI
In vitro Activity of Moxalactam against Pathogenic Bacteria and its Comparison with Other Antibiotics. Chemotherapy 29, 37-42 (1983)
- 107 PRIMAVESI, G.A.
Bakteriologische Untersuchung mit Cefotaxim, einem neuen Cephalosporin. Med. Welt 30, 1407-1409 (1979)

- 108 REEVES, D.S., M.J. BYWATER, H.A. HOLT, J.M. BROUGHALL
Azlocillin and Mezlocillin: Laboratory Studies of their Properties, Including Comparison with the Antibacterial Activity of other Antibiotics. *Arzneim. Forsch.* 29 (II), 1920-1929 (1979)
- 109 REIMER, L.G., S. MIRRETT, L.B. RELLER
Comparison of in Vitro Activity of Moxalactam (LY 127935) with Cefazolin, Amikacin, Tobramycin, Carbenicillin, Piperacillin and Ticarcillin Against 420 Blood Culture Isolates. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 17, 412-416
- 110 RICHMOND, H.M.
Penicillinase-feste Penicilline und Cephalosporine. *Dt. Med. Wschr.* 34, 1207-1210 (1977)
- 111 RICHMOND, M.H., R.B. SYKES
The β -Lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role. In *Advances in Microbial Physiology*, A.H. Rose, D.W. Tempest, eds., Vol. 9, Academic Press, New York, London 1973, 31-881
- 112 ROLINSON, G.N.
6-APA and the development of the β -lactam-antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 5, 7-14 (1979)
- 113 ROLINSON, G.N.
Basis and Results of Therapy with Beta-Lactam Antibiotics in Experimental Infections. *Infection* 8 (Suppl. 1), 30-34 (1980)
- 114 ROSS, G.W., K.V. CHANTER, A.M. HARRIES, S.M. KIRBY, M.J. MARSTALL, C.H. O'CALLGHAN
Comparison of Assay Techniques for β -Lactamase Activity. *Analytical Biochem.* 54, 9-16 (1973)
- 115 RUTTKOWSKI, E., H.H. MARTIN
Synergismus der Hemmwirkung spezieller Kombinationen von Betalaktam Antibiotika auf Wachstum und Zellwandbiosynthese von *Proteus mirabilis*. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, 39-43, W. Zuckschwerdt Verlag München
- 116 SABATH, L.D., H.A. MC CALL, N.H. STEIGBIGEL, M. FINLAND
Synergistic penicillin combinations for treatment of human urinary tract infections. *Antimicrob. Ag. Chemotherapy*, 149-155 (1966)
- 117 SANDERS, C.C., W.E. SANDERS
Emergence of resistance of cefamandol: possible role of cefoxitin inducible beta-lactamase. *Antimicrob. Ag. Chemotherapy* 15, 792-797 (1979)
- 118 SCRIBNER, R.K., M.I. MARKS, A.H. WEBER, M.M. TARPAY, D.F. WELCH
Activities of Various β -Lactams and Aminoglycosides, Alone and in Combination, Against Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 21, 939-943 (1982)

- 119 SCUDAMORE, R.A., M. GOLDNER
Penetration of the Outer Membrane of *Pseudomonas aeruginosa*
by Synergistic Combinations of Beta-Lactam and Aminoglycoside
Antibiotics. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 21, 1007-1010 (1982)
- 120 SELYE, H.
Use of "Granuloma Pouch" Technic in Study of Antiphlogistic
Corticoids (20108). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82, 328-333
(1953)
- 121 SHAH, P.M.
Kritische und rationelle antibakterielle Chemotherapie. *Inter-
nist* 22, 461-467 (1981)
- 122 SHAH, P.M., W. STILLE
Kinetik der Bakterizidie von Cefazolin, Cefoxitin und Amikacin
allein und in Kombination. *Arzneim. Forsch.* 28 (II), 1539-
1541 (1978)
- 123 SHEEHAN, J.C., K.R. HENERY-COGAN
The total synthesis of penicillin. *V.J. Amer. Chem. Soc.* 79,
262 (1957)
- 124 SIEGENTHALER, W., P. FUCHS, R. LÜTHY
Die Prophylaxe bakterieller Infektionen. *Internist* 22, 57-61
(1981)
- 125 SMITH, M.R., W.B. WOOD, Jr.
An Experimental Analysis of the Curative Action of Penicillin
in acute Bacterial Infections. II. The Role of Phagocytic Cells
in the Process of Recovery. *J. Exp. Med.* 103, 499-507 (1956)
- 125 SMITH, M.R., W. BARRY WOOD, Jr.
An Experimental Analysis of the Curative Action of Penicillin
in Acute Bacterial Infections. III. The Effect of Suppuration
upon the Antibacterial Action of the Drug. *J. Exp. Med.* 103,
509-521 (1956)
- 127 SOARES, L.A., L.R. TRABULSI
Synergistic Action between Sisomicin and Mezlocillin against
Gram-negative Bacteria and *Staphylococcus aureus*. *Arzneim.
Forsch.* 29 (II), 1934-1937 (1979)
- 128 SOARES, L.A., L.R. TRABULSI
Studies in the Antibacterial Activity of two New Acylureido-
penicillins, Mezlocillin and Azlocillin. *Arzneim. Forsch.* 29
(II), 1932-1934 (1979)
- 129 SPITZY, K.H.
Fortschritte in der Therapie mit Beta-Laktam-Antibiotika.
Infection 7 (Suppl. 1), 7-12 (1979)
- 130 SPITZY, K.H.
Wirkungsmechanismen als Beurteilungsgrundlagen antibakteri-
ell wirkender Antibiotika und Chemotherapeutika. *Therapie-
woche* 27 (1977), 8889-8896

- 131 SPRATT, B.G.
Biochemical and genetical approaches to the mechanism of action of penicillin. Phil. Trans. R. Soc. London 289, 273-278 (1980)
- 132 SPRATT, B.G.
Penicillin-binding proteins of *Escherichia coli*. General properties and characterisation of mutants. Microbiology, 182-190 (1977)
- 133 STAHLMANN, R., H. LODE
Neue Penicilline: antibakterielle, pharmakokinetische und therapeutische Eigenschaften. Der Klinikarzt 12, 694-713 (1983)
- 134 STILLE, W.
Kombinationstherapie bei schweren akuten Infektionen. Klinikarzt 8, 212-220 (1979)
- 135 STREHL, E.
Zum Wirkungsmechanismus von β -Lactam-Antibiotika. Med. Mo. Pharm. 9, 274-275 (1981)
- 136 SYKES, R.B., M. MATHEW
The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 2, 115-157 (1976)
- 137 ULLMANN, U.
Correlation of Minimum Inhibitory Concentration and Beta-Lactamase Activity. Infection 5, 261-262 (1977)
- 138 UNERTL, K., F.D. DASCHNER, W. MARGET
A Semiautomatic Microtube Dilution Method for Determining Antibiotic Blood Concentrations. Chemotherapy 20, 331-338 (1974)
- 139 VERBIST, L.
Comparison of In Vitro Activities of Eight β -Lactamase-Stable Cephalosporins Against β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli. Antimicrob. Ag. Chemother. 19, 407-413 (1981)
- 140 Veterans Administration ad hoc interdisciplinary advisory committee on antimicrobial drug usage. Audits of antimicrobial usage. 2. Nonsurgical prophylaxis. Jama 237, 1134 (1977)
- 141 WAGNER, W.H.
Die gegenwärtige Resistenzsituation. Immunität und Infektion 6, 180-193 (1978)
- 142 WALTER, A.M., L. HEILMEYER
Antibiotika-Fiebel, Thieme-Verlag 4. Aufl. (1975)
- 143 WEGHE, van den, M., R. JANN, H.H. MARTIN
Synergismus und Antagonismus von kombinierten Betalaktam-Antibiotika bei *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus morganii* und *Pseudomonas aeruginosa*. Arbeitstagung der Sektion antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Frankfurt 1981, 44-47, W. Zuckschwerdt Verlag München

- 144 WILHELM, M.J., N.L. OLEINICK, J.W. CORCORAN
Interaction of Antibiotics with Ribosomes: Structure-Function Relationships and a Possible Common Mechanism for the Antibacterial Action of the Macrolides and Lincomycin. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 236-250 (1967)
- 145 WISE, R., A.P. GILLETT, J.M. ANDREWS
The in vitro activity of mezlocillin when combined with cefoxitin or clavulanic acid. *J. Antimicrob. Chemother.* 5, 301-306 (1979)
- 146 WISE, R., A.P. GILLETT, J.M. ANDREWS
A Study of the In Vitro Activity of Cefoperazone: A Comparison with Other Beta-Lactam Antibiotics. *Clin. Therapeutics* 3 (special issue), 149-155 (1980)
- 147 WIEDEMANN, B.
Microbiological Basis of Antibiotic Therapy. *Infection* 8 (Suppl 1), 6-12 (1980)
- 148 WOOD, W.B., Jr., M.R. SMITH
An Experimental Analysis of the curative Action of Penicillin in acute Bacterial Infections. I. The Relationship of Bacterial Growth Rates to the Antimicrobial Effect of Penicillin. *J. Exp. Med.* 103, 487-497 (1956))
- 149 ZINNER, S.H., J. KLASTERSKY, H. GAYA, C. BERNARD, J.C. RYFF
and the EORTC Antimicrobial Therapy Project Group. In Vitro and In Vivo Studies of three Antibiotic Combinations Against Gram-Negative Bacteria and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 20, 463-469 (1981)

Proteus vulgaris	Azlo-cillin	Mezlo-cillin	Cefoxitin	Cefotaxim	Cefoperazon	Moxalactam	Netilmicin	Amikacin
087/79	2/2	1/2	2/4	0,016/0,063	0,25/1	0,5/0,5	0,5/0,5	4/4
276/79	2/4	1/1	2/4	0,008/0,016	0,5/0,5	0,25/0,25	0,5/1	2/4
340/79	2/2	1/1	4/4	0,008/0,016	0,5/0,5	0,25/0,25	1/1	4/4
067/79	2/4	1/1	4/8	0,008/0,008	0,5/1	0,5/0,5	1/1	1/2
712/79	1/2	0,5/0,5	4/4	0,008/0,008	0,25/0,5	1/1	2/2	4/8
100/79	2/2	1/1	4/4	0,008/0,008	0,5/0,5	0,5/0,5	1/1	2/2
191/79	8/32	2/4	2/4	0,063/0,063	2/8	0,25/0,25	2/2	4/4
273/79	4/8	2/2	2/4	0,008/0,008	0,12/0,2	0,5/0,5	0,5/0,5	2/2
550/79	64/64	8/8	2/2	0,008/0,016	1/2	0,5/1	0,25/1	4/4
699/79	2/4	1/2	2/2	0,008/0,016	1/1	0,5/0,5	0,25/0,5	4/4
Mittelwerte	3,2/5,3	1,3/1,5	2,6/3,7	0,01/0,02	0,5/0,8	0,4/0,4	0,7/0,9	2,8/3,4

Tab. 1: Proteus vulgaris - MHK und MBK der untersuchten Antibiotika (mcg/ml)

Proteus morganii	Azlo- cillin	Mezlo- cillin	Cefoxi- tin	Cefo- taxim	Cefope- razon	Moxa- lactam	Netil- micin	Amika- cin
011/79	128/128	64/128	16/16	8/8	8/16	0,25/0,5	0,5/0,5	2/2
102/79	32/32	16/32	16/16	1/2	4/4	0,25/0,5	0,5/0,5	2/4
062/79	2/2	1/1	8/8	0,03/0,06	1/4	1/4	0,12/0,25	0,25/1
119/79	128/128	32/32	32/32	4/4	4/4	1/2	1/1	2/2
933/79	128/128	64/64	16/16	4/8	8/8	1/4	0,5/1	4/4
112/79	128/128	64/64	8/16	4/8	32/32	1/1	1/1	2/4
840/79	128/128	16/16	32/32	2/2	2/4	0,25/0,25	0,5/1	1/2
853/79	16/128	2/2	32/32	0,5/4	1/2	0,25/0,25	1/2	2/8
238/79	16/16	4/4	4/4	0,25/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	1/2	8/16
Mittel- werte	43,5/ 54,8	13,7/16	14,8/16	1,1/2	2,9/4,6	0,4/0,8	0,5/0,8	1,8/3,4

Tab. 2: Proteus morganii - MHK und MBK der untersuchten Antibiotika (mcg/ml)

Proteus rettgeri	Azlo- cillin	Mezlo- cillin	Cefoxi- tin	Cefo- taxim	Cefope- razon	Moxa- lactam	Netil- micin	Amika- cin
310/79	128/128	32/32	8/16	0,12/0,12	16/32	0,03/0,12	128/128	0,25/0,5
204/79	4/8	2/2	0,5/1	0,01/0,01	0,12/0,25	0,5/0,5	16/32	4/4
853/79	4/4	1/2	1/2	0,01/0,01	0,25/0,5	0,06/0,25	1/8	0,5/1
753/79	128/128	128/128	64/64	0,5/0,5	128/128	0,5/1	128/128	16/16
Mittel- werte	22,6/ 26,9	9,5/11,3	4/6,7	0,06/0,06	2,8/4,7	0,15/0,35	22,6/45,2	1,6/2,3

Tab. 3: Proteus rettgeri - MHK und MBK der untersuchten Antibiotika (mcg/ml)

Klebsiella pneumoniae	Azlocillin	Cefoxitin	Cefotaxim	Cefoperazon	Moxalactam	Netilmicin	Amikacin
011/79	128/128	4/4	0,063/0,125	2/2	0,063/0,125	0,125/0,125	0,25/0,25
052/79	128/128	16/16	0,125/0,125	2/2	0,063/0,063	0,125/0,125	0,5/0,5
060/79	64/64	8/8	0,125/0,25	0,5/0,5	1/1	0,125/0,125	1/1
151/79	32/32	4/8	0,063/0,063	0,25/0,25	0,25/0,25	0,125/0,125	0,5/0,5
274/79	64/64	8/8	0,125/0,125	0,5/0,5	0,5/1	1/1	4/4
276/79	32/32	16/32	0,25/0,25	0,5/1	0,5/0,5	0,25/0,25	0,5/1
287/79	32/32	16/16	0,25/0,25	0,5/1	1/1	0,125/0,125	0,5/1
289/79	64/64	4/4	0,063/0,125	0,25/0,5	0,125/0,25	0,125/0,125	0,5/0,5
295/79	128/128	16/16	0,25/0,25	16/16	1/2	0,25/1	2/4
377/79	16/32	4/4	0,125/0,125	0,25/0,25	0,125/0,125	0,25/0,25	1/1
Mittelwerte	55,7/59,7	6,9/9,1	0,12/0,15	0,7/1	0,29/0,30	0,18/0,21	0,75/0,93

Tab. 4: Klebsiella pneumoniae - MHK und MBK der untersuchten Antibiotika (mcg/ml)

Pseudomonas aeruginosa	Azlo- cillin	Cefo- taxim	Cefope- razon	Moxa- lactam	Netil- micin	Amika- cin
268/79	4/4	16/16	1/1	8/16	2/2	0,5/1
079/79	8/8	16/32	1/1	8/16	8/32	2/2
053/79	16/16	32/32	2/2	64/64	2/2	4/4
035/79	8/16	32/32	2/4	16/16	1/2	2/2
157/79	16/32	32/32	2/2	32/32	2/4	2/2
855/79	128/128	128/128	4/8	64/64	1/2	1/1
055/79	128/128	128/128	8/8	64/128	4/8	2/4
817/79	16/128	32/32	2/2	32/32	2/8	2/4
050/79	32/32	32/32	1/1	16/32	1/2	2/2
Mittel- werte	20,1/29,6	37,3/40,3	2/2,3	25,4/34,6	2/4	1,7/2,1

Tab. 5: Pseudomonas aeruginosa - MHK und MBK der untersuchten Antibiotika (mcg/ml)

Klebsiella pneumoniae	Netilmicin 0,125 Cefoxitin	Netilmicin 0,125 Cefotaxim	Netilmicin 0,125 Cefoperazon	Netilmicin 0,125 Moxalactam
011/79	0,5/0,5	0,008/0,008	0,25/0,25	0,008/0,016
052/79	0,5/1	0,008/0,016	0,125/0,125	0,008/0,016
151/79	0,5/0,5	0,031/0,031	0,25/0,25	0,063/0,063
060/79	2/4	0,125/0,25	0,5/0,5	0,125/0,125
274/79	0,5/0,5	0,125/0,25	0,25/0,5	0,125/0,25
276/79	2/4	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,25
287/79	2/4	0,031/0,063	0,5/0,5	0,125/0,125
289/79	1/1	0,008/0,008	0,25/0,25	0,063/0,125
295/79	0,5/1	0,125/0,125	2/2	0,125/0,125
377/79	1/2	0,125/0,125	0,25/0,25	0,031/0,031
Mittelwerte	0,87/1,31	0,03/0,05	0,32/0,37	0,05/0,07

Tab. 6: *Klebsiella pneumoniae* - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden und Cephalosporinen

Klebsiella pneumoniae	Amikacin 0,25 Cefotaxim	Amikacin 0,25 Cefoperazon	Amikacin 0,25 Moxalactam
011/79	0,008/0,016	2/4	0,063/0,125
052/79	0,016/0,031	2/4	0,125/0,125
060/79	0,125/0,25	1/1	0,5/1
151/79	0,031/0,063	0,125/0,125	0,125/0,125
274/79	0,125/0,125	0,5/1	0,5/0,5
276/79	0,125/0,25	0,125/0,5	0,25/0,5
287/79	0,125/0,125	0,125/0,5	0,25/0,5
289/79	0,031/0,031	0,125/0,5	0,063/0,063
295/79	0,125/0,125	16/16	0,125/0,25
377/79	0,125/0,125	0,063/0,063	0,063/0,063
Mittelwerte	0,058/0,082	0,46/0,93	0,15/0,46

Tab. 7: Klebsiella pneumoniae - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden und Cephalosporinen (mcg/ml)

Pseudomonas aeruginosa	Azlocillin 2,0 Cefotaxim	Azlocillin 2,0 Cefoperazon	Azlocillin 2,0 Moxalactam	Netilmicin 0,5 Azlocillin	Amikacin 0,25 Azlocillin
268/79	8/8	1/2	8/8	4/4	2/2
079/79	2/8	2/2	8/16	8/8	2/4
053/79	4/16	4/4	16/32	8/16	4/4
035/79	8/16	4/4	32/32	32/32	2/2
157/79	2/8	4/4	16/32	16/32	8/8
855/79	64/64	8/8	64/128	64/128	16/64
055/79	64/64	16/16	64/128	128/128	16/64
817/79	4/8	1/2	8/16	1/1	2/8
050/79	4/8	2/4	32/32	1/1	2/4
Mittelwerte	7,4/14,8	3,1/4,0	20,1/32,0	10,0/12,6	3,48/6,06

Tab. 8: Pseudomonas aeruginosa - MHK und MBK der untersuchten Antibiotikakombinationen (mcg/ml)

Proteus vulgaris	Netilmicin Cefoxitin	Netilmicin 0,125 Cefotaxim	Netilmicin 0,125 Cefoperazon	Netilmicin 0,125 Moxalactam	Netilmicin 0,125 Mezlocillin
087/79	2/4	0,008/0,008	0,125/0,5	0,125/0,25	0,125/0,5
276/79	2/4	0,008/0,016	0,5/0,5	0,25/0,25	0,25/1
340/79	2/2	0,016/0,031	1/1	0,25/0,5	0,25/0,5
067/79	4/4	0,008/0,016	0,5/1	0,25/0,25	0,125/0,25
712/79	4/4	0,008/0,016	1/1	0,25/0,5	0,125/0,5
100/79	4/4	0,031/0,031	1/1	0,5/0,5	0,5/1
191/79	4/4	0,031/0,063	1/4	1/1	1/1
273/79	1/4	0,008/0,016	0,5/2	0,125/0,25	0,5/0,5
550/79	2/2	0,008/0,016	1/4	0,125/0,25	0,25/0,5
699/79	4/4	0,031/0,031	2/2	0,25/0,5	0,5/2
Mittelwerte	2,6/3,4	0,016/0,02	0,7/1,31	0,25/0,37	0,28/0,65

Tab. 9: *Proteus vulgaris* - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden mit β -Laktamantibiotika (mcg/ml)

Proteus morganii	Netilmicin 0,125 Cefoxitin	Netilmicin 0,125 Cefotaxim	Netilmicin 0,125 Cefoperazon	Netilmicin 0,125 Moxalactam	Netilmicin 0,125 Nezlocillin
011/79	8/8	2/2	4/16	0,125/0,5	64/64
102/79	32/64	0,5/0,5	2/8	0,25/0,5	8/8
062/79	8/16	0,016/0,031	1/2	0,063/0,125	1/4
119/79	8/16	1/2	4/8	0,125/0,25	16/32
933/79	8/8	4/8	16/32	0,125/0,5	64/128
112/79	8/8	4/8	32/64	0,063/0,25	64/128
840/79	8/8	0,25/1	1/4	0,25/0,25	16/32
853/79	16/16	0,25/1	1/2	0,125/0,5	4/4
238/79	8/8	0,063/0,063	1/2	0,25/0,5	1/4
Mittelwerte	10,0/12,6	0,46/0,85	2,93/7,4	0,13/0,34	10,8/20,1

Tab. 10: Proteus morganii - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden mit β -Laktamantibiotika (mcg/ml)

Proteus rettgeri	Netilmicin Cefoxitin	0,125	Netilmicin Cefotaxim	0,125	Netilmicin 0,125 Cefoperazon	Netilmicin 0,125 Moxalactam	Netilmicin 0,125 Mezlocillin
310/79	1/1	0,5/1		1/1		0,016/0,031	16/32
204/79	1/2	0,063/0,125		0,125/0,125		0,031/0,031	1/2
853/79	0,25/0,5	0,25/0,25		0,25/0,25		0,016/0,016	1/4
753/79	0,5/2	2/2		4/8		0,125/0,25	64/128
Mittelwerte	0,59/1,18	0,35/0,5		0,59/0,7		0,03/0,04	5,65/13,45

Tab. 11: Proteus rettgeri - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden mit β -Laktamantibiotika (mcg/ml)

Proteus vulgaris	Amikacin 0,25 Cefotaxim	Amikacin 0,25 Cefoperazon	Amikacin 0,25 Moxalactam
087/79	0,008/0,016	0,5/2	0,25/0,5
276/79	0,016/0,031	0,5/0,5	0,125/0,125
191/79	0,031/0,031	1/2	0,25/0,5
550/79	0,008/0,016	0,5/1	0,125/0,5
Mittelwerte	0,013/0,022	0,59/1,18	0,21/0,35

Tab. 12: Proteus vulgaris - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen (mcg/ml)

Proteus morganii	Amikacin 0,25 Cefotaxim	Amikacin 0,25 Cefoperazon	Amikacin 0,25 Moxalactam
011/79	2/2	8/8	0,25/0,25
102/79	1/1	4/4	0,125/0,25
062/79	0,125/0,5	1/1	0,125/0,125
119/79	1/4	2/4	0,125/0,125
933/79	2/4	8/8	0,25/0,25
112/79	2/4	16/16	0,25/0,25
840/79	0,5/1	1/2	0,125/0,125
853/79	0,5/1	0,5/2	0,125/0,125
238/79	0,031/0,031	0,125/0,5	0,125/0,125
Mittelwerte	0,58/1,07	1,59/2,16	0,157/0,17

Tab. 13: Proteus morganii - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden und Cephalosporinen

Proteus rettgeri	Amikacin 0,25 Cefotaxim	Amikacin 0,25 Cefoperazon	Amikacin 0,25 Moxalactam
310/79	0,008/0,016	1/2	0,016/0,031
204/79	0,008/0,031	0,125/0,5	0,125/0,25
853/79	0,008/0,008	0,125/0,25	0,063/0,125
753/79	0,008/0,016	128/128	0,5/0,5
Mittelwerte	0,008/0,015	1,189/2,370	0,089/0,148

Tab. 14: Proteus rettgeri - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von Aminoglykosiden mit Cephalosporinen (mcg/ml)

Proteus vulgaris	Mezlocillin 0,5 Cefoxitin	Mezlocillin 0,5 Cefotaxim	Mezlocillin 0,5 Cefoperazon	Mezlocillin 0,5 Moxalactam
087/79	2/4	0,008/0,016	0,008/0,016	0,25/0,5
276/79	2/4	0,008/0,016	0,125/0,125	0,063/0,125
340/79	4/8	0,016/0,016	1/1	0,125/0,5
067/79	4/4	0,008/0,031	0,25/0,5	0,25/0,5
712/79	4/4	0,008/0,031	0,25/0,5	0,25/0,5
100/79	2/4	0,008/0,016	1/2	0,25/0,5
191/79	4/8	0,063/0,125	1/1	0,125/0,25
273/79	4/8	0,008/0,016	0,25/0,25	0,125/0,125
550/79	4/4	0,063/0,063	2/2	0,125/0,25
699/79	2/4	0,031/0,031	0,25/0,5	0,125/0,25
Mittelwerte	3,03/4,92	0,014/0,027	0,234/0,379	0,154/0,307

Tab. 15: *Proteus vulgaris* - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika (mcg/ml)

Proteus morganii	Mezlocillin 1,0 Cefoxitin	Mezlocillin 1,0 Cefotaxim	Mezlocillin 1,0 Cefoperazon	Mezlocillin 1,0 Moxalactam
011/79	4/8	4/8	4/16	0,125/0,25
102/79	16/32	0,5/1	0,5/1	0,5/2
062/79	8/16	0,125/0,5	0,25/1	0,125/0,5
119/79	16/32	1/4	1/2	0,125/1
933/79	8/16	4/8	16/32	0,25/0,5
112/79	8/8	4/8	32/64	0,5/1
840/79	8/8	0,5/2	0,25/1	0,125/0,25
853/79	16/32	0,125/0,5	4/4	0,5/0,5
238/79	2/4	0,031/0,125	0,5/1	0,125/1
Mittelwerte	8,0/13,71	0,56/1,71	1,71/4	0,21/0,62

Tab. 16: Proteus morganii - MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von β -Laktamanlibiotika (mcg/ml)

Proteus rettgeri	Mezlocillin Cefoxitin	Mezlocillin 0,5 Cefotaxim	Mezlocillin 0,5 Cefoperazon	Mezlocillin 0,5 Moxalactam
310/79	4/8	0,016/0,031	8/8	0,125/0,125
204/79	4/8	0,008/0,031	1/2	0,125/0,5
853/79	4/4	0,008/0,016	2/4	0,063/0,125
753/79	8/16	0,031/0,125	64/128	0,5/0,5
Mittelwerte	4,7/8,0	0,013/0,037	5,65/9,51	0,14/0,25

Tab. 17: Proteus rettgeri – MHK und MBK der untersuchten Kombinationen von β -Laktamantibiotika (mcg/ml)

Kontrollstamm	Antibiotikum	MHK-Werte mcg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ellsworth NCTC 10490	Mezlocillin	8,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ellsworth NCTC 10490	Azlocillin	0,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ellsworth NCTC 10490	Netilmicin	1,0
<i>Staph. aureus</i> SG 511	Cefoxitin	2,0
<i>Staph. aureus</i> SG 511	Amikacin	0,063
<i>E. coli</i> ATCC 10536	Moxalactam	0,125

Tab. 18: Minimale Hemmkonzentration der Kontrollstämme

Bebrütungszeit t h	Proteus vulgaris 191 - Kontrolle	Azlocillin 16,0 mcg/ml	Cefotaxim 0,125 mcg/ml	Azlocillin 16 mcg/ml Cefotaxim 0,125 mcg/ml
0	$2,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$
1	$5,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$
2	$5,5 \times 10^6$	$7,8 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$
4	$1,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^5$	$7,5 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$
6	$1,0 \times 10^9$	$5,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$9,0 \times 10^3$
24	$6,0 \times 10^9$	$4,5 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
48	$9,8 \times 10^9$	$7,5 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$

Tab. 19: *Proteus vulgaris* 191 - Kinetik der Bakterizidie von β -Laktamantibiotikakombinationen
Keime/ml

Bebrütungszeit t h	Azlocillin 4,0 mcg/ml	Cefotaxim 0,031 mcg/ml	Azlocillin 4 mcg/ml Cefotaxim 0,031 mcg/ml
0	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
1	$7,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$3,5 \times 10^5$
2	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5$
4	$1,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
6	$5,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$
24	$4,5 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$5,0 \times 10^8$
48	$9,7 \times 10^9$	$9,6 \times 10^9$	$4,5 \times 10^9$

Tab. 20: *Proteus vulgaris* 191 – Kinetik der Bakterizidie von β -Laktamantibiotikakombinationen
(Kontrollstamm Tab. 19) – Keime/ml

Bebrütungszeit t h	Mezlocillin 4,0 mcg/ml	Cefotaxim 0,125 mcg/ml	Cefoperazon 4,0 mcg/ml	Mezlocillin Cefotaxim	Mezlocillin Cefoperazon
0	$2,9 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$
1	$1,0 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$8,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
2	$7,0 \times 10^5$	$5,5 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
4	$1,5 \times 10^5$	$8,2 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$
6	$2,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
24	$5,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$
48	$4,0 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$	$5,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$

Tab. 21: *Proteus vulgaris* 191 – Kinetik der Bakterizidie von β -Laktamantibiotikakombinationen
(Kontrollstamm Tab. 19) – Keime/ml

Bebrütungszeit t h	Mezlocillin 1,0 mcg/ml	Cefotaxim 0,031 mcg/ml	Cefoperazon 1,0 mcg/ml	Mezlocillin Cefotaxim	Mezlocillin Cefoperazon
0	$3,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
1	$1,2 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
2	$4,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$
4	$9,6 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$
6	$2,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$6,5 \times 10^6$	$8,5 \times 10^6$
24	$2,5 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
48	$9,0 \times 10^9$	$8,5 \times 10^9$	$9,0 \times 10^9$	$7,5 \times 10^9$	$8,0 \times 10^9$

Tab. 22: *Proteus vulgaris* 191 - Kinetik der Bakterizidie von β -Laktamanthibiotikakombinationen
(Kontrollstamm Tab. 19) - Keime/ml

Keimzahl/ml (log)	Behandlungstag			
	2	3	4	5
Proteus vulgaris 191	7,8666	8,2158	7,9424	8,2615
Mezlocillin	7,5196	7,7318	6,7024	8,2445
Cefotaxim	6,0508	5,1119	4,4260	3,5237
Cefoperazon	7,7970	7,8933	7,4654	7,4314
Mezlo Ctx	4,9031	4,1714	3,7513	2,7482
Mezlo Cpz	6,5605	6,7642	6,6676	7,4481
Ctx Cpz	5,5315	4,3979	3,0000	3,0000

Tab. 23: *Proteus vulgaris* 191 - Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch

Keimzahl/ml (log)	Behandlungstag				
	2	3	4	5	
Proteus vulgaris 276	7,4778	7,9038	7,9532	8,2186	
Mezlocillin	4,6704	4,6355	4,1106	3,0969	
Cefotaxim	5,5832	4,6128	3,4472	3,0000	
Cefoperazon	4,1004	3,7810	3,2041	2,8195	
Mezlo Ctx	4,2878	3,6902	2,4472	2,2553	
Mezlo Cpz	4,4800	3,0000	3,0000	3,0000	
Ctx Cpz	3,9731	3,0000	3,0000	3,0000	

Tab. 24: Proteus vulgaris 276 - Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch

Keimzahl/ml (log)	Behandlungstag				
	2	3	4	5	
<i>Proteus vulgaris</i> 550	8,1939	8,3421	8,0876	8,1781	
Mezlocillin	8,0350	7,6931	7,6201	7,5519	
Cefotaxim	8,0671	8,2455	7,1998	8,2601	
Cefoperazon	7,7379	8,0212	8,3130	8,0253	
Mezlo Ctx	5,0334	4,9731	4,0821	3,0280	
Mezlo Cpz	7,8325	7,3930	7,4213	7,0927	
Ctx Cpz	7,1031	7,3062	7,3488	7,1875	

Tab. 25: *Proteus vulgaris* 550 - Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch

Keimzahl/ml (log)	B e h a n d l u n g s t a g				
	2	3	4	5	
Proteus vulgaris 67	7,0559	7,1745	7,4411	8,1955	
Mezlocillin	4,2492	3,2553	3,0000	2,0000	
Cefotaxim	4,5237	3,0000	2,7782	2,3680	
Cefoperazon	6,4346	5,9572	5,8203	3,9930	
Mezlo Ctx	5,5955	4,9719	2,4771	2,0000	
Mezlo Cpz	3,0000	3,0000	3,0000	3,0000	
Ctx Cpz	3,2553	3,0000	3,0000	3,0000	

Tab. 26: Proteus vulgaris 67 - Antibakterielle Wirkung von β -Laktamantibiotika in der Granuloma Pouch

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. H. Lode danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, für die hervorragende Unterstützung sowie für die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. A. Dalhoff vom Institut für Chemotherapie Wuppertal für die gute Anleitung und die bereitwillige Betreuung bei der Durchführung der tierexperimentellen Arbeiten.

Frau G. Dzwillo danke ich sehr herzlich für die vorzügliche Beratung sowie für die Mithilfe bei der Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit.

Für die geduldige Unterstützung und sachliche Kritik danke ich meinem Ehemann, Lorenz Linnhoff, ohne dessen Mitarbeit und Einsatz die Erstellung dieser Arbeit in der vorliegenden Form für mich nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

I. PERSÖNLICHE DATEN

Name: Anneliese E. Linnhoff, geb. Gehl
Eltern: Josef Gehl (Kaufmann)
Elisabeth Gehl, geb. Klug
05.09.55 geboren in Arad/Rumänien
23.09.83 Eheschließung mit Lorenz Linnhoff

II. AUSBILDUNG

1962 - 1966 Grundschule in Arad
1966 - 1974 Deutsches Gymnasium in Arad und Musikschule
Abt. Klavier
Juni 1974 Abitur
1974 - 1975 Lehrerin für Musik am Deutschen Gymnasium
in Arad
1975 - 1978 Medizinstudium an der Medizinhochschule in
Bukarest
Sept. 1978 Übersiedlung nach Berlin
1979 - 1982 Medizinstudium an der Freien Universität Berlin
Jan. 1980 Beginn der vorliegenden Dissertation
Juni 1982 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung und
Approbation als Arzt
seit
Juli 1982 Assistenzärztin im Krankenhaus Heckeshorn,
Pulmologie

